نشریه علمی
پژوهشهای علوم دامی ایران

جلد ۱۱ شماره ۳
سال ۱۳۹۸

(شماره پیاپی: ۳۹)

شاپا: ۳۱۰۶-۲۰۰۸

Ferdowsi University of Mashhad

Vol. 11 No. 3
2019

Iranian Journal of Animal Science Research

ISSN:2008-3106

عنوان مقالات

اثرات اوره آهسته رهش و ملاس، بر عملکرد رشد، قابلیت هضم، تخمیر شکمبه‌ای و صفات لاشه گوسفندان پرواری ۲۷۳
محمدرضا مشایخی، محسن ساری، نعیم عرفانی مجد، مرتضی رضایی

اثر جایگزینی سطوح مختلف سبوس برنج روغن‌کشی شده با کنجاله سویا بر تولید و ترکیبات شیر، نمره وضعیت بدنی و برخی فراسنجه‌های خونی گاوهای شیری ۲۹۳
یداله چاشنی دل، ، سیروس شکرالهی، مصطفی یوسف الهی، اکبر سلیمانی و مهدی بهاری

تاثیر اشکال مختلف سلنیوم بر فراسنجه های تولید گاز، تخمیر شکمبه و جمعیت پروتوزوآی شکمبه ۳۰۷
سمیرا دهقانی، اکبر تقی زاده، حمید محمدزاده

تاثیر مکمل‌های آلی و معدنی روی در جیره بره‌های نر نژاد کرمانی بر غلظت مواد معدنی، وضعیت آنتی‌اکسیدانی و برخی فراسنجه‌های خون ۳۱۹
امیر موسائی

تغذیه طیور

تاثیر لیزین و بتائین جیره بر خصوصیات گوشت و استخوان جوجه‌های گوشتی تحت آسیت القایی سرمایی ۳۳۱
عباس علی‌پناه- محسن دانشیار- پرویز فرهومند- غلامرضا نجفی

اثرات پیش‌مخلوط مواد معدنی بر عملکرد، پر درآوری، خصوصیات استخوان درشت‌نی و میزان تجمیع عناصر معدنی در سرم و پر جوجه‌های گوشتی ۳۴۱
سلیمان محمدی، حسن درمانی کوهی، نوید قوی حسین زاده

ژنتیک و اصلاح

تعیین قابلیت هضم ظاهری و ایلئومی استاندارد شده اسیدهای آمینه ضروری ذرت، گندم، کنجاله سویا و کنجاله گلوتن ذرت در بلدرچین ژاپنی در سن سه هفتگی ۳۵۳
محمود قزاقی - احمد حسن آبادی - مهران مهری

تجزیه و تحلیل ژنوتیپی ناحیه‌ی کمپلکس اصلی سازگاری بافتی در مرغ‌های بومی ایران ۳۶۵
جعفر پیش‌جنگ آقاجری- قدرت‌اله رحیمی میانجی- سید حسن حافظیان- محسن قلی‌زاده- قربان الیاسی

انتخاب ژنومی با استفاده از شبکه‌های عصبی مصنوعی بیزی و روش‌های پارامتری مطالعه مقایسه‌ای ۳۷۷
سعید شادپور- مجتبی طهمورث پور محمد مهدی شریعتی

تنوع ژنتیکی خط پدری اسب‌های ایرانی با استفاده از توالی یابی بخشی از کروموزوم Y ۳۸۹
نعمت هدایت ایوریق، رضا خلخالی ایوریق، رضا سیدشریفی، مصطفی عمری

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Iranian Journal of Animal Science Research
جلد ۱۱ شماره ۳ سال ۱۳۹۸

Contents

Ruminant nutrition

Effects of Dietary Slow Release Urea and Molasses on Growth Performance, Digestibility, Ruminal Fermentation and Carcass Traits of Fattening Lambs 291
M. R. Mashayekhi, M. Sari, N. Erfani-majd, M. Rezaei

The Effect of Different Levels of De-oiled Rice Bran Replacement to Soybean Meal on Milk Production and Composition, Body Condition Score and Some Blood Parameters in Dairy Cows 306
Yadollah Chashnidel ,Sirous Shokrolahi ,Mostafa Yousefelahi ,Akbar Soleymani ,Mehdi Bahari

The Effects of Different Forms of Selenium on Gas Production Parameters, Rumen Fermentation and Rumen Protozoa Population 317
S. Dehghani, A. Taghizadeh, H. Mohammadzadeh

Dietary organic and inorganic zinc supplements in Kermani male lambs: Impacts on serum minerals, antioxidant status and some blood parameters. 329
A. Mousaie

Poultry nutrition

Effects of Dietary Lysine and Betaine on Meat and Bone Characteristics of Broiler Chickens Under Cold Induced Ascites 340
Alipanah - M. Daneshyar- P. Farhoomand - Gh. Najafi

Effects of Mineral Premix on Performance, Feathering Score, Tibia Characteristics and Minerals Accumulation in Serum and Feather in Broiler Chicks 352
S. Mohammadi- H. Darmani Kuhi- N. Ghavi Hossein-Zadeh

Genetic and breeding

Determination of Apparent and Standardized Ileal Digestibility of Essential Amino Acids of Corn, Wheat, Soybean Meal and Corn Gluten Meal in Japanese Quails During Third Week of Age 364
Mahmoud Ghazaghi, Ahmad Hassanabadi, Mehran Mehri

Genotype Analysis of the Major Histocompatibility Complex Region in Iranian Indigenous Chicken 376
J. Pish Jang Aghajeri - G. Rahimi Mianji- S. H. Hafezian- M. Gholizadeh- G. Elyasi

Genomic Enabled Prediction Using Bayesian Artificial Neural Networks and Parametric Methods a Comparative Study 388
S. Shadpour - M. Tahmoorespur - M. M. Shariati

Genetic Diversity in Paternal Line of Iranian Horses Using Partial Sequencing of Chromosome Y 398
Nemat Hedayat Evrigh, Reza Khalkhali Evrigh, Reza Seyedsharifi, Mostafa Omri

نشریه علمی
پژوهشهای علوم دامی ایران

با شماره پروانه ۳۶۵۵ در تاریخ ۸۷/۸/۱۹ از وزارت فرهنگ و ارشاد اسلامی و درجه علمی-پژوهشی به شماره ۳/۳۱۴۹ در تاریخ ۸۹/۴/۳۰ از وزارت علوم تحقیقات و فناوری (از جلد ۱ سال ۱۳۸۸)

بر اساس مصوبه وزارت عتف از سال ۱۳۹۸، کلیه نشریات دارای درجه "علمی-پژوهشی" به نشریه "علمی" تغییر نام یافتند.

جلد ۱۱ شماره ۳ پاییز ۱۳۹۸

صاحب امتیاز : دانشگاه فردوسی مشهد

مدیر مسئول : دکتر حسن نصیری مقدم

سردبیر : دکتر رضا ولی زاده

اعضای هیئت تحریریه :

دکتر رضا ولی زاده	استاد تغذیه نشخوارکنندگان	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر محسن دانش مسگران	استاد تغذیه نشخوارکنندگان	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر غلامرضا قربانی	استاد تغذیه نشخوارکنندگان	دانشگاه صنعتی اصفهان
دکتر سید محمد مهدی طباطبایی	استاد تغذیه نشخوارکنندگان	دانشگاه بوعلی سینا همدان
دکتر مرتضی چاجی	دانشیار تغذیه نشخوارکنندگان	دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
دکتر حسن نصیری مقدم	استاد تغذیه طیور	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر ابوالقاسم گلیان	استاد تغذیه طیور	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر جواد پور رضا	استاد تغذیه طیور	دانشگاه صنعتی اصفهان
دکتر فتح الله بلداجی	استاد تغذیه طیور	دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
دکتر احمد حسن آبادی	استاد تغذیه طیور	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر بهروز دستار	استاد تغذیه طیور	دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
دکتر جواد ضمیری	استاد فیزیولوژی حیوانی	دانشگاه شیراز
دکتر نصراله پیرانی	استاد ژنتیک و اصلاح نژاد	دانشگاه شهرکرد
دکتر محمدرضا نصیری	استاد ژنتیک و اصلاح نژاد	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر مجتبی طهمورث پور	استاد ژنتیک و اصلاح نژاد	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر سعید زره داران	استاد ژنتیک و اصلاح نژاد	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر مهدی سرگلزایی	دانشیار ژنتیک	دانشگاه گوئلف، کانادا

ناشر: انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد

چاپ: چاپخانه دانشگاه فردوسی مشهد

نشانی: مشهد، میدان آزادی، پردیس دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی، دبیرخانه نشریات علمی، دفتر نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران. صندوق پستی ۱۱۶۳- ۹۱۷۷۵

نمابر: ۰۵۱-۳۸۷۸۷۴۳۰

پست الکترونیکی: ijasr@ferdowsi.um.ac.ir

مقالات این شماره در سایت https://ijasr.um.ac.ir به صورت مقاله کامل نمایه شده است.

این نشریه در پایگاه های زیر نمایه می شود:

پایگاه استنادی جهان اسلام (ISC) پایگاه اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی(SID) بانک اطلاعات نشریات کشور(MAGIRAN)

این نشریه به صورت فصلنامه (چهار شماره در سال) منتشر می‌شود

بسم الله الرحمن الرحیم

مندرجات

تغذیه نشخوارکنندگان **صفحه**

اثرات اوره آهسته رهش و ملاس، بر عملکرد رشد، قابلیت هضم، تخمیر شکمبه‌ای و صفات لاشه گوسفندان پرواری ۲۷۳
محمدرضا مشایخی، محسن ساری، نعیم عرفانی مجد، مرتضی رضایی

اثر جایگزینی سطوح مختلف سبوس برنج روغن‌کشی شده با کنجاله سویا بر تولید و ترکیبات شیر، نمره وضعیت بدنی و برخی فراسنجه‌های خونی گاوهای شیری ۲۹۳
یداله چاشنی دل، ، سیروس شکرالهی، مصطفی یوسف الهی، اکبر سلیمانی و مهدی بهاری

تاثیر اشکال مختلف سلنیوم بر فراسنجه های تولید گاز، تخمیر شکمبه و جمعیت پروتوزوآی شکمبه ۳۰۷
سمیرا دهقانی، اکبر تقی زاده، حمید محمدزاده

تاثیر مکمل‌های آلی و معدنی روی در جیره بره‌های نر نژاد کرمانی بر غلظت مواد معدنی، وضعیت آنتی‌اکسیدانی و برخی فراسنجه‌های خون ۳۱۹
امیر موسائی

تغذیه طیور

تاثیر لیزین و بتائین جیره بر خصوصیات گوشت و استخوان جوجه‌های گوشتی تحت آسیت القایی سرمایی ۳۳۱
عباس علی‌پناه- محسن دانشیار- پرویز فرهومند- غلامرضا نجفی

اثرات پیش‌مخلوط مواد معدنی بر عملکرد، پر درآوری، خصوصیات استخوان درشت‌نی و میزان تجمیع عناصر معدنی در سرم و پر جوجه‌های گوشتی ۳۴۱
سلیمان محمدی، حسن درمانی کوهی، نوید قوی حسین زاده

تعیین قابلیت هضم ظاهری و ایلئومی استاندارد شده اسیدهای آمینه ضروری ذرت، گندم، کنجاله سویا و کنجاله گلوتن ذرت در بلدرچین ژاپنی در سن سه هفتگی ۳۵۳
محمود قزاقی -احمد حسن آبادی -مهران مهری

ژنتیک و اصلاح

تجزیه و تحلیل ژنوتیپی ناحیه‌ی کمپلکس اصلی سازگاری بافتی در مرغ‌های بومی ایران ۳۶۵
جعفر پیش‌جنگ آقاجری- قدرت‌اله رحیمی میانجی- سید حسن حافظیان- محسن قلی‌زاده- قربان الیاسی

انتخاب ژنومی با استفاده از شبکه‌های عصبی مصنوعی بیزی و روش‌های پارامتری مطالعه مقایسه‌ای ۳۷۷
سعید شادپور- مجتبی طهمورث پور محمد مهدی شریعتی

تنوع ژنتیکی خط پدری اسب‌های ایرانی با استفاده از توالی یابی بخشی از کروموزوم Y ۳۸۹
نعمت هدایت ایوریق، رضا خلخالی ایوریق، رضا سیدشریفی، مصطفی عمری

اسامی ارزیابان جلد ۱۱ شماره ۳ (پاییز ۱۳۹۸) نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران (به ترتیب الفبا)

دکتر فرزاد باقرزاده کاسمانی	دانشگاه زابل
دکتر علی جوادمنش	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر حیدر زرقی	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر سعید زره داران	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر داوودعلی ساقی	سازمان تحقیقات و آموزش جهاد کشاورزی
دکتر علی اکبر ساکی	دانشگاه بوعلی سینا همدان
دکتر سمیه سالاری	دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان
دکتر سعید سبحانی راد	دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد
دکتر میرداریوش شکوری	دانشگاه محقق اردبیلی
دکتر عبدالمنصور طهماسبی	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر امیرحسین علیزاده قمصری	موسسه تحقیقات علوم دامی کشور
دکتر یونس علی علی جو	دانشگاه ارومیه
دکتر سید احسان غیاثی	دانشگاه بیرجند
دکتر جمال فیاضی	دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان
دکتر مرضیه قدمی کوهستانی	شرکت کیمیا آنزیم
دکتر رضا مجیدزاده هروی	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر طاهره محمدآبادی	دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان
دکتر محمدرضا محمدآبادی	دانشگاه شهید باهنر کرمان
دکتر حمید محمدزاده	دانشگاه تبریز
دکتر علی محرری	دانشگاه شهرکرد
دکتر امیر موسائی	دانشگاه جیرفت
دکتر محمدرضا نصیری	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر محمدعلی نوروزیان	دانشگاه تهران- پردیس ابوریحان
دکتر محمود وطن خواه	دانشگاه شهرکرد
دکتر علی هاشمی	دانشگاه ارومیه

راهنمای تهیه و نگارش مقاله جهت چاپ در نشریه پژوهش های علوم دامی ایران

نشریه پژوهش های علوم دامی ایران، وابسته به دانشگاه فردوسی مشهد مقالات تحقیقی نویسندگان داخلی و خارجی را در زمینه های علوم دامی که به زبان فارسی با چکیده مبسوط به زبان انگلیسی و بر اساس دستورالعمل زیر تهیه شده باشند، جهت چاپ در نشریه می پذیرد. این مقالات باید برای اولین بار ارایه شده باشند و یا بطور همزمان به نشریه دیگری برای چاپ ارسال نگردیده باشند. ارایه نتایج در گردهمائی‌های علمی یا چاپ بصورت چکیده در مجلات علمی بلامانع است. **توجه به شیوه نامه ذیل کاملا ضروری است:**

- ✓ مقاله‌ای که بر اساس دستورالعمل نشریه تهیه نشده باشد، در جلسه هیئت تحریریه مطرح نمی‌شود.
- ✓ مقاله‌ها توسط هیات تحریریه و داوران بررسی و در صورت پذیرش بر اساس تاریخ دریافت در نوبت چاپ قرار خواهند گرفت.
- ✓ مسئولیت صحت مطالب به عهده نویسنده (گان) به طور مشخص نویسنده مسئول می باشد.
- ✓ هیأت تحریریه در رد و ویرایش مقاله ها مجاز است.
- ✓ مقاله ها پس از پذیرش نهایی، از لحاظ ادبی ویرایش شده و جهت اعمال اصلاحات نهایی برای نویسنده مسئول ارسال می‌گردد. نویسنده مسئول باید اصلاحات خواسته شده را ظرف مدت ۳ روز با نرم افزارMicrosoft Word 2007 اعمال و ارسال نماید. بدیهی است هرگونه تغییر پس از آن قابل قبول نخواهد بود.
- ✓ مدارک مربوط به داوری کلیه مقاله ها در دفتر نشریه محفوظ و محرمانه بوده و هیأت تحریریه نسبت به ارائه مدارک مربوط به مقالاتی که مورد پذیرش قرار نگرفته اند، متعهد نمی‌باشد.
- ✓ عدم رعایت شیوه نامه فوق موجب تأخیر در پذیرش و رفت و برگشت‌های مکرر و زمان‌بر مقاله خواهد شد.

نکات مهم:

جهت ارسال هر مقاله باید چهار فایل با این مشخصات آماده گردد. ۱) فایل اصلی مقاله بـه صـورت Word، ۲) فایـل اصـلی مقالـه بـه صورت PDF (**فایلهای اصلی نباید دارای اسامی و مشخصات نویسندگان باشند**)، ۳) فایل صفحه مشخصـات نویسـندگان مقاله و ۴) فایل تعهد نامه که باید از طریق سایت نشـریه بـه آدرس http://ijasr.um.ac.ir/index.php/animal بـه صـورت بارگذاری در سایت، ارسال گردد. فایلهای Word وPDF در قسمت فایلهای اصلی و فایلهای صفحه مشخصات نویسندگان و تعهدنامـه در قسمت فایلهای مکمل بارگذاری شود. در هنگام ارسال مقاله عنوان مقاله به طور صحیح و اسامی کلیه نویسندگان مقاله به ترتیب باید در سایت وارد شود. توجه شود که کلیه مراحل (ارسال، ارزیابی، اصلاحات، پذیرش و یا عدم پذیرش) از طریق سـایت نشـریه انجـام مـی گیرد، همچنین کلیه نویسندگان مقاله باید فرم ارسال مقاله را تأیید و فقط از طریق سایت روند پیشـروی مقالـه خـود را پیگیـری نماینـد. نویســـنده مســـئول مـــی توانـــد از طریـــق ایمیـــل نشـــریه بـــه آدرس ijasr@um.ac.ir ، ijasr@fum.ac یـــا ijasr@ferdowsi.um.ac.ir نیز از روند پیشرفت مقاله خود مطلع گردد.

الف) فرم صفحه مشخصات مقاله

صفحه مشخصات باید به هر دو زبان فارسی و انگلیسی حاوی عنوان کامل مقاله، نام و نام خـانوادگی، مرتبـه علمـی و سـمت نویسـنده (گان)، نام گروه یا مؤسسه ای که نویسنده (گان) در آن شاغل هستند و محلی که تحقیق در آن انجام شده است، آدرس کامـل نویسـنده

(گان) شامل آدرس پستی، شماره تلفن، دورنگار و آدرس پست الکترونیکی باید در این صفحه قید شود. توجه شود که نام و محل خدمت نویسنده (گان) باید فقط در این صفحه نوشته شود و از تکرار آن در صفحات دیگر مقاله خودداری شود.

ب) فرم تعهد نامه

فرم تعهدنامه که در سایت بارگذاری شده است باید توسط نویسندگان تکمیل و پس از اینکه **به امضای تمام نویسنده (گان) مقاله** رسید، اسکن شده و همراه فرم صفحه مشخصات نویسندگان به عنوان فایل مکمل در سایت بارگذاری گردد.

پ) دستورالعمل تهیه مقاله؛ روش تحریر

- ✓ کلیه قسمتهای مقاله بایستی توسط Word 2007 و با فاصله خطوط ۱ و رعایت ۲/۵ سانتی متر حاشیه از هر طرف تهیه شده باشد.
- ✓ فونت B Mitra با اندازه فونت ۱۴ بکار رود.
- ✓ حداکثر تعداد صفحات مقاله ۱۵ صفحه باشد.
- ✓ از نشانه گذاری های متداول چون نقطه، ویرگول و ... به درستی استفاده شود.
- ✓ معادله‌ها در متن مقاله باید به ترتیب از ابتدا تا انتها شماره‌گذاری شوند.
- ✓ واحدهای مورد استفاده در متن مقاله باید بر اساس سیستم بین‌المللی متریک (SI) باشد.
- ✓ تعداد پاورقی ها به حداقل برسد و شماره پاورقی‌ها در هر صفحه از عدد یک آغاز شود.

ت) ترتیب بخش ها

بخشهای ضروری هر مقاله شامل: عنوان، چکیده فارسی، واژه های کلیدی، مقدمه، مواد و روش ها، نتایج و بحث، نتیجه گیری کلی، منابع، عنوان انگلیسی وچکیده مبسوط انگلیسی می باشند. بخشهای پیشنهادات و سپاسگزاری بصورت اختیاری و کاملاً خلاصه شده می توانند به متن مقاله پس از بخش نتیجه گیری کلی اضافه شوند.

۱- عنوان

عنوان مقاله در ابتدا و وسط صفحه اول و به صورت پررنگ نوشته شود. عنوان باید روان، بیانگر محتوای مقاله و مختصر (حداکثر حاوی ۱۵ کلمه) باشد. عنوان فارسی، چکیده فارسی و واژه‌های کلیدی (بدون ذکر نام نویسندگان) باید در صفحه نخست ذکر شوند.

۲- چکیده فارسی

چکیده فارسی باید حداکثر در ۲۵۰ کلمه تهیه شود. در این بخش مقاله اهداف عمده، مواد و روشها، نتایج و کاربردهای شاخص بصورت خلاصه و گویا ذکر شوند. از ذکر علائم آماری چون ($P<۰/۰۵$) و منابع مورد استفاده در این قسمت مقاله خودداری شود.

۳- واژه های کلیدی

در انتهای متن چکیده فارسی حداکثر ۵ کلمه به عنوان واژه های کلیدی (به ترتیب حروف الفبا) نوشته شود.

٤- مقدمه

مقدمه باید به معرفی و توجیه موضوع و هدف مورد پژوهش بپردازد و در آن به تحقیقات انجام یافته در زمینه مورد نظر به طور مختصر و کافی اشاره شده باشد. مقدمه باید حداکثر در یک صفحه ارائه شده باشد.

٥- مواد و روش ها

شرح کامل مواد مورد استفاده و روش ها و طرح (طرحهای) آزمایشی بکار رفته در این بخش ذکر شوند. از بیان کامل روشهای اقتباس شده خودداری گردد و فقط به ارایه اصول و ذکر مأخذ اکتفا شود. مواد و روشهای ویژه، اصلاحی و ابداعات به نحوی که دیگران قادر به استفاده از آن در آزمایشهای خود باشند، می توانند به اختصار ذکر گردند. درصورت لزوم جهت معرفی تیمارها و یا روشهای خاص آزمایش می توان از جدول یا شکل استفاده کرد.

٦- نتایج و بحث

برای ارایه نتایج می توان از جدول، شکل، تصویر و منحنی استفاده کرد، اما باید از تکرار آنها به فرمتهای مختلف جدا خودداری شود. در هر قسمتی که نتایج ارائه می شوند باید مورد تجزیه و تحلیل هم قرار گیرند و با در نظر گرفتن هدف پژوهش، نتایج حاصله با نتایج پژوهش‌های مشابه مقایسه و بحث شوند و نتیجه گیری از هر مبحث در انتهای آن ذکر گردد.

٦-١- نحوه تهیه جدول ها و شکل ها

٦-١-١- جدول

- ✓ الگوی جدول باید دقیقا مشابه جدول نمونه ذیل باشد.
- ✓ عنوان و اطلاعات نوشتاری درون جدول به دو صورت فارسی و انگلیسی نوشته شوند، اما اعداد فقط به انگلیسی نوشته شوند.
- ✓ فونت عنوان و محتویات جدول برای فارسی B Mitra و برای انگلیسی Times New Ruman با اندازه ١٠ باشد. زیرنویس با اندازه فونت ٩ نوشته شود.
- ✓ عنوان جدول در بالا و با فرمت وسط چین نوشته و گویای نتایج مندرج در آن باشد. عنوان از شماره جدول با خط تیره جدا شود. در کل جدول فقط عبارت جدول و شماره آن پررنگ گردد و از ارائه پررنگ سایر قسمت‌های جدول خودداری شود. (**جدول ١**- تأثیر .....)
- ✓ هر جدول با یک خط افقی از عنوان آن و سر جدول با یک خط افقی از متن جدول جدا و در زیر متن جدول نیز یک خط افقی کشیده شود. در صورت لزوم می‌توان برای تقسیم سر جدول از خطوط افقی در داخل کادر سر جدول استفاده کرد.
- ✓ تیمارها در ردیف اول، سر جدول و به صورت وسط چین، اما متغیرها در سمت چپ جدول و به صورت چپ چین ارائه گردد.
- ✓ از کشیدن هر گونه خط عمودی در جدول خودداری شود.
- ✓ توضیحات اضافی عنوان و متن جدول باید بصورت زیر نویس ارائه شوند و ارتباط آنها با جدول و عنوان با استفاده از علامت های عددی در بالا و سمت راست جمله ها، اعداد و غیره به صورت توان و اندازه کوچکتر مشخص شود. برای نوشتن زیر نویس یک سطر به جدول اضافه و آن سطر را Merge کرده و زیر نویس ها را در آن بنویسید تا خطوط شروع جدول و زیر نویس همراستا باشند.
- ✓ توضیحات زیرنویس درصورتی که به زبان فارسی است، راست چین و درصورتی که به زبان انگلیسی است، چپ چین باشند.

- ✓ واحدهای مربوط به هر پارامتر جدول روبروی آن نوشته شود و اگر کل پارامترهای جدول یک واحد دارند در عنوان جدول نوشته شود. (مانند مثال زیر):

جدول ۱– تأثیر سطوح مختلف محصولات فرعی در جیره بر متابولیتهای پلاسما (بر حسب میلیگرم بر دسی لیتر)

Table1- Effect of different levels of by-productsin dietaryon plasma metabolites (mg/dl)

متابولیتهای پلاسما Plasma metabolites	جیره های آزمایشی Experimental diets				*P-value*		
	Alfalfa	5% BP[1]	20% BP	SEM	*treat*	*time*	*Treat × time*
گلوکز Glucose (mg/dl)	10.0	10.0	10.0	10.0	0.002	0.002	0.002
نیتروژن اوره ای خون BUN (%)[2]	10.0	10.0	10.0	10.0	0.002	0.002	0.002
آسپارتات آمینو ترانسفراز AST (U/L)[3]	10.0	10.0	10.0	10.0	0.002	0.002	0.002
آلانین آمینو ترانسفراز ALT (U/L)[4]	10.0	10.0	10.0	10.0	0.002	0.002	0.002
لیپوپروتئین با دانسیته پایین LDL (mol/L)[6]	10.0	10.0	10.0	10.0	0.002	0.002	0.002

میانگین های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی دار می باشند (P<0.05).

Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).

[1]By-Products were used instead of alfalfa in 5 and 10 % based on dry matter intake.

[2]Blood urea nitrogen

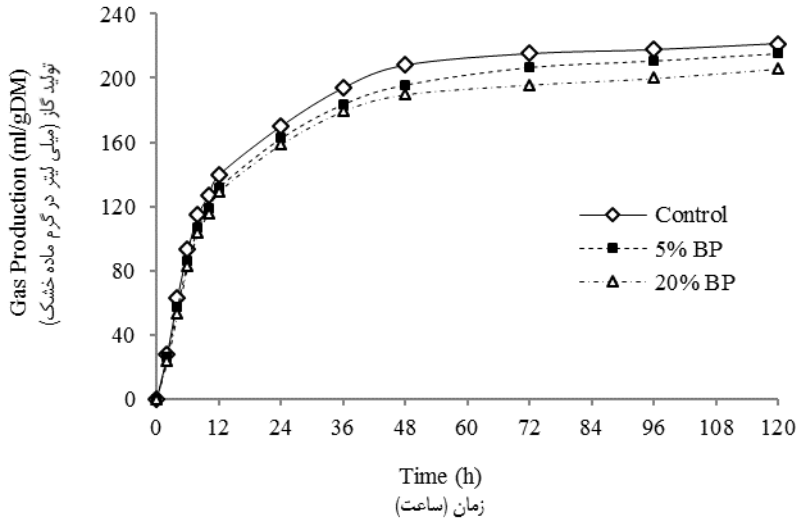
[3]Aspartate Aminotransferase

[4]Alanine Aminotransferase

[5]Low density lipoprotein

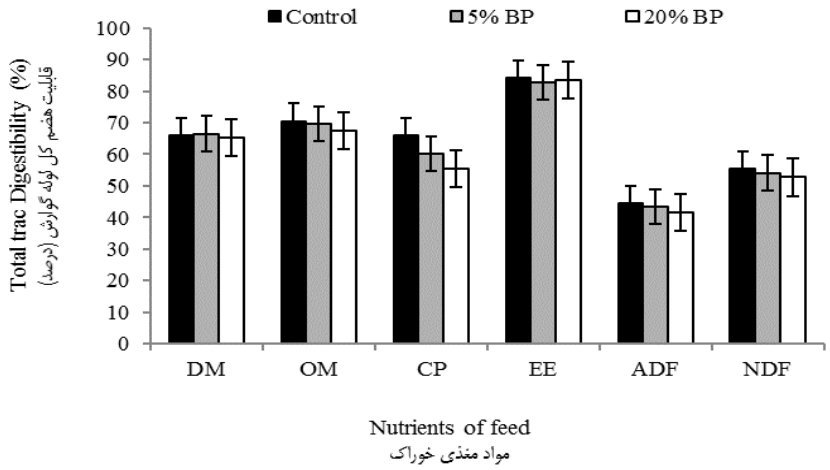
٦-۱-۲- شکل

- ✓ الگوی شکل باید دقیقا مشابه با شکل‌های نمونه ذیل باشد.
- ✓ عنوان شکل، عنوان محورهای افقی و عمودی شکل به دو صورت فارسی و انگلیسی نوشته شوند. اما اعداد به انگلیسی باشند.
- ✓ هر محور افقی و عمودی باید حاوی توضیح کامل و واحد باشد. واحد پس از عنوان محور داخل پرانتز نوشته شود.
- ✓ عنوان شکل در پایین و با فرمت وسط چین نوشته و معرف محتوای ارایه شده در آن باشد.
- ✓ فونت عنوان و محتویات شکل برای فارسی B Mitra و برای انگلیسی Times New Ruman با اندازه ۱۰ باشد. زیرنویس با اندازه فونت ۹ نوشته شود. در کل شکل فقط عبارت شکل و شماره آن پررنگ باشد و عنوان و توضیح شکل به صورت پررنگ نباشد. (**شکل ۱**– تأثیر .....)
- ✓ از اعداد انگلیسی در محورهای افقی و عمودی در شکل‌ها استفاده شود. توجه: در مورد شکل، از الگوهای سیاه و سفید استفاده شود و رنگ زمینه در کلیه شکلها بایستی سفید باشد.
- ✓ در نمودارهای خطی می توان از علائمی نظیر (●, ○, ■, □♦, ◊, ▲,△, +) استفاده کرد.
- ✓ از آوردن کادر دور شکل و خطوط طولی در شکل خودداری شود.
- ✓ سعی شود با نرم افزار Excle روی شکلها به خوبی کار شود تا بالاترین کیفیت برای شکلها بدست آید.



شکل ۱– تأثیر سطوح مختلف محصولات فرعی در جیره بر میزان تولید گاز در شرایط *in vitro*

Figure 1- Effects of different levels of by-productsin dietary on extent of gas production *in vitro*



شکل ۱– تأثیر سطوح مختلف محصولات فرعی در جیرهبر قابلیت هضم شکمبه ای مواد مغذی

Figure 1- Effects of different levels of by-productsin dietary on rumen digestibility of nutrients

۷- نتیجه گیری کلی

استنتاج های کلی و شاخص حاصل از تحقیق باید در این بخش ذکر شوند. چنانچه نویسنده (گان) پیشنهاداتی بر آمـده از تحقیـق بـرای خوانندگان داشته باشند، می توانند در این قسمت ذکر نمایند.

۸- سپاسگزاری

بخشی اختیاری است و در ذیل آن نگارنده (گان) می توانند از تأمین کنندگان بودجه، امکانات و اشخاصی کـه در انجـام تحقیـق کمـک کرده اند حداکثر در ۳ سطر پس از پذیرش در مرحله ویراستاری تشکر و قدردانی نمایند، بنابراین توصیه اکید می شود نویسنده (گـان) در کلیه مراحل قبل از پذیرش نهایی از اضافه کردن این بخش به مقاله خودداری نمایند.

۹-منابع

الف- ارجاع به منابع

در متن مقاله ارجاع به منابع مقاله باید با استفاده از ذکر شماره هر منبع در آخر هر جمله یا پاراگراف صورت گیرد. درصورتی که یک جمله یا پاراگراف به چند منبع ارجاع می دهد، رعایت ترتیب اعداد از کوچک به بزرگ الزامی است.

همچنین مطالعات ژنتیکی محدودی روی ژنوم شتر در ایران صورت گرفته است (۲، ٤، ۱۸). خبیری و همکاران (۵)، توالی نوکلئوتیدی را در دو گونه شتر مورد بررسی قرار دادند.

ب- منابع مورد استفاده

منابع مورد استفاده باید شامل جدیدترین منابع در زمینه کار مورد نظر باشـد. فهرسـت منـابع بـه ترتیـب حـروف الفبـای نـام خـانوادگی نویسنده(گان) مقاله مرتب و شماره‌گذاری شود. وقتی از چند اثر مختلف یک نویسنده استفاده می‌شود، ترتیب شماره‌گذاری این مقاله‌ها بر حسب سال انتشار آنها (از قدیم به جدید) انجام گیرد **(توجه شود که تمام منابع فارسی و انگلیسی مورد استفاده در قسمت منابع باید به انگلیسی نوشته شوند. سال‌های شمسی به میلادی تبدیل شوند. در برگردان اسامی افـراد اطمینـان حاصل شود که املاء آن‌ها و سال انتشار درست باشد. ضروری است در انتهای منـابع فارسـی کـه بـه انگلیسـی برگردان شده است عبارت In Persian داخل پرانتز ذکر شود).**

۹-۱- نکات مهم درمورد نوشتن منابع

- ✓ منابع بایستی بر اساس روش مورد استفاده Journal of Dairy Science تنظیم شود. اما توجه شود که نام نشریه و یا همایش علمی باید به صورت کامل نوشته شود و از نوشتن مخفف آنها جداً خودداری شود.
- ✓ نحوه نگارش منابع اتخاذ شده از نشریه های علمی، کتاب، همایش ها و یا درگاه الکترونیکی بایستی به صورت ذیل باشد.
- ✓ نام خانوادگی نویسنده اول، حرف اول اسم (اسامی) کوچک نویسنده اول، از نویسنده دوم به بعد حرف اول اسم (اسامی) کوچک و بعد نام خانوادگی. سال انتشار. عنوان. مشخصات ناشر. صفحه.
- ✓ به نقطه و ویرگولها در نوشتن منابع بسیار توجه شود.

به مثالها توجه نمایید:

۹-۱-۱- نشریه های علمی

1. Lane, M. A., R. L. Baldwin, and W. Jesse. 2011. Sheep rumen metabolic development in response to different dietary treatment. Journal of Dairy Science, 78(Supp1.1):310(Abstr).
2. Tyrrell, H. F., and P. W. Moe. 2008. Effect of intake on digestive efficiency. Journal of Dairy Science. 58:1151-1163.
3. Ansari-Renani, H., M. Salehi., Z. Ebadi, and S. Moradi. 2010. Identification of hair follicle characteristics and activity of one and two humped camels. Small Ruminant Research, 90(1):64-70.

4. Akbari, M, and H. R. Afshari. 2014. Mapping of transcription factor binding Region of kappa casein (CSN3) gene in Iranian Bacterianus and Dromedaries camels. Iranian Journal of Animal Science Research, 6(4):57-65. (In Persian).
5. Karimi, M. A., M. C. Esfahan., G. Hisseini, and M. Rezaei. 2012. Effect of glutamic acid on broiler given sub marginal crude protein with adequate essential amino acids using feeds high and low in potassium. Iranian Journal of Animal Science Research, 5(2):17-25. (In Persian).

۹-۱-۲- کتاب ها

6. AOAC International. 2012. Official Methods of Analysis. 19th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
7. Goering, H. K., and P. J. Van Soest. 1970. Forage Fiber Analyses (Apparatus, Reagents, Procedures, and Some Applications). Agric. Handbook No. 379. ARS-USDA, Washington, DC.
8. Lengemann, F. W., R. A. Wentworth, and C. L. Comar. 1974. Physiological and biochemical aspects of the accumulation of contaminant radionuclides in milk. Pages 159–170 in Lactation: A Comprehensive Treatise. Nutrition and Biochemistry of Milk/Maintenance. Vol. 3. B. L. Larson and V. R. Smith, ed. Academic Press, London, UK.
9. National Research Council. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.

۹-۱-۳- همایش ها

10. Barbano, D. M. 1996. Mozzarella cheese yield: Factors to consider. Page 29 in Proc. Wisconsin Cheese Markers Meeting Center of Dairy Research, University of Wisconsin, Madison.
11. National Mastitis council. 1995. Summary of peer-reviewed publications on efficacy of premilking and postmilking teat distinfections published since 1980. Pages 82-92 in Natl. Mastitis Council Regional Meeting proceeding, Harrisburg, PA. Natl. Mastitis counc, Inc., Madison. WI.

۹-۱-٤- درگاه الکترونیکی (Web Site)

12. Buch, L. H., A. C. Sorensen, J. Lassen, P. Berg, J. A. Eriksson, J. H. Jakobsen, and M. K. Sorensen. 2011. Hygiene-related and feed-related hoof diseases show different patterns of genetic correlations to clinical mastitis and female fertility. Journal of Dairy Science, 94:1540–1551. http://dx.doi.org/10.3168/jds.2010-3137.

13. Mathieu R., H. M. Richards, S. J. Brooks, W. Stewart, and M. Sbins. 2004. Relationships between Milk production and heritability in Holstein dairy cattle. International Journal of Animal Science, 24(2):65–81. Available at http://www.informaworld.com/contentUa/V.24-2.

۱۰- چکیده انگلیسی

بر اساس رویکرد دانشگاه فردوسی مشهد مبنی بر لزوم توجه به نظام‌های رتبه‌بندی و علم سنجی رسمی، از ارایه‌دهندگان مقاله‌ها درخواست می‌گردد که چکیده انگلیسی مقاله را به صورت چکیده مبسوط (Extended Abstract) با فرمت زیر تهیه و در انتهای مقاله حداکثر در یک صفحه بعد از منابع نوشته و سپس مقاله را در سایت بارگذاری نمایند. چکیده مبسوط باید دارای **حداقل ۷۰۰ و حداکثر ۱۰۰۰ کلمه** باشد. بخشهای تشکیل دهنده چکیده مبسوط و مشخصات آنها باید به شرح ذیل باشد.

- ✓ ابتدای واژه‌های اصلی عنوان انگلیسی مقاله و کلمات کلیدی با حروف بزرگ نوشته شود.
- ✓ از ذکر اسامی و آدرس نویسندگان به انگلیسی در بخش چکیده مبسوط خودداری گردد.

The Title Should Be Times New Roman, Font Size 12, Bold and Center. The Scientific Name in Title and in Text Should Be *Italic*.

Introduction Text type here. Text type here.Text type here.Text type here.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 11, No. 3, Fall 2019, p. 273-291

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد 11، شماره 3، پاییز 1398، ص. 291-273

اثرات اوره آهسته رهش و ملاس، بر عملکرد رشد، قابلیت هضم، تخمیر شکمبه‌ای و صفات لاشه گوسفندان پرواری

محمدرضا مشایخی[1]، محسن ساری[2*]، نعیم عرفانی مجد[3]، مرتضی رضایی[4]

تاریخ دریافت : 1396/11/17
تاریخ پذیرش: 1397/03/20

چکیده

هدف از انجام این آزمایش بررسی اثرات اوره آهسته رهش (با نام تجاری نیتروزا) در مقایسه با اوره معمولی، با یا بدون افزودن ملاس، بر عملکرد، خصوصیات لاشه، تخمیر شکمبه‌ای و فراسنجه‌های خونی بره‌های پرواری بود. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با 5 تیمار شامل کنترل، دو منبع نیتروژن غیر پروتیینی اوره معمولی (1/6 درصد) و اوره آهسته رهش (1/8 درصد) با یا بدون ملاس (صفر و 20 درصد) و 7 تکرار با استفاده از 35 راس بره نر عربی، به مدت 105 روز انجام شد. جایگزینی اوره معمولی با اوره آهسته رهش و نیز افزودن ملاس به جیره، در مقایسه با گروه کنترل، موجب ایجاد تغییر در افزایش وزن روزانه، ضریب تبدیل خوراک، وزن نهایی پروار، صفات و وزن قطعات لاشه، فراسنجه‌های رنگ سنجی گوشت و قابلیت هضم مواد مغذی نشد. در جیره‌های حاوی اوره غلظت پروپیونات و نیتروژن آمونیاکی شکمبه، نسبت به جیره کنترل، بالاتر بود. افزودن ملاس به جیره موجب افزایش غلظت بوتیرات و کل اسیدهای چرب فرار شکمبه نسبت به جیره کنترل شد. در تیمار کنترل، pH شکمبه نسبت به تیمارهای حاوی منابع نیتروژن غیر پروتیینی پایین‌تر بود. همراه شدن ملاس با اوره، باعث کاهش نیتروژن اوره‌ای خون شد. در کل نتایج آزمایش نشان داد که اگرچه جایگزینی اوره معمولی با اوره آهسته رهش و نیز همراه شدن ملاس با آن، در جیره‌های پُرکنسانتره برخی فراسنجه‌های تخمیری شکمبه و متابولیت‌های خونی را تحت تاثیر قرار داد ولی این تغییرات به اندازه‌ای نبود که بتواند بهبودی در عملکرد پروار و قابلیت هضم مواد مغذی ایجاد نماید.

واژه‌های کلیدی: اوره آهسته رهش، تخمیر شکمبه، عملکرد پروار، قابلیت هضم، ملاس.

مقدمه

استفاده از نیتروژن غیر پروتیینی و بطور عمده اوره، به دلیل قیمت پایین‌تر در مقایسه با منابع پروتیین گیاهی، همواره به عنوان یک جایگزین برای پروتیین حقیقی مورد توجه بوده است. با این حال آبکافت[5] سریع اوره منجر به افزایش غلظت آمونیاک شکمبه شده، در حالی که روند تجزیه کربوهیدرات در شکمبه و رشد میکروبی، نسبت به سرعت آزاد سازی آمونیاک، کندتراست و بنابراین اوره بطورکارآمدی توسط میکروارگانیزم‌های شکمبه مورد استفاده قرار نگرفته (47) و منجر به تجمع و عبور آمونیاک از جدار دیواره شکمبه می‌شود. افزایش بیش از حد غلظت آمونیاک خون، می‌تواند موجب کاهش مصرف خوراک، اُفت عملکرد، دفع نیتروژن به محیط زیست و در برخی شرایط مسمومیت آمونیاکی حیوان شود (28). برآیند چنین رخدادی، اتلاف بخش عمده‌ای از نیتروژن حاصل از منابع نیتروژن غیر پروتیینی خواهد بود (29).

موضوع کارایی نیتروژن در سال‌های اخیر به علت نگرانی‌های زیست محیطی در مورد انتشار نیتروژن و آلودگی‌های ناشی از آن و لزوم وضع مقررات دولتی در این ارتباط بسیار مورد توجه قرار گرفته است. دفع نیتروژن به محیط از طریق ادرار و مدفوع، باعث آلودگی هوا و آب‌های سطحی شده و با تولید و انتشار اکسید نیتروس[6] به

1- دانشجوی دکتری تغذیه دام گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان. ایران
2- دانشیار گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان. ایران
3- استاد دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز. ایران
4- استادیار پژوهش موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.
(*- ایمیل نویسنده مسئول: m.sari@asnrukh.ac.ir)
Doi:10.22067/ijasr.v11i3.70840
5- Hydrolysis
6- N_2O

محیط، شکل گیری باران اسیدی و بیماری‌های تنفسی را بـه دنبـال دارد (56). راهبرد استفاده از منابع نیتروژن غیـر پروتیینـی، برقـراری جریان پیوسته‌ای از نیتروژن، برای حفـظ سـطح بهینـه آمونیـاک در شکمبه می‌باشد (40). انواع جدیـدتـر اوره، بـا آزاد سـازی کُنـد اوره[1] نسبت به اوره معمولی نیتروژن را کُنـدتر آزاد مـی‌کننـد و مـی‌تواننـد جایگزینی برای اوره معمولی باشند (50). در عین حال ممکـن اسـت بخشی از منابع نیتروژن غیر پروتیینی این ترکیبات، بـدون هیـدرولیز شدن و تبدیل شدن به آمونیاک، شکمبه را ترک کرده و باعث کاهش مشارکت آنها در تشکیل پروتیین میکروبی شده و به همین دلیل بـه اندازه‌ی اوره‌ی معمولی مفید واقع نشوند (26).

هم زمانی هیدورلیز اوره با تجزیه کربوهیدرات‌ها می‌تواند راندمان استفاده از نیتروژن غیر پروتیینی در تولید پروتیین میکروبی را بهبـود دهد (22). همراه کردن اوره با یک منبع کربوهیدرات قابل حل یـک عامل مهم در استفاده آمونیاک توسط میکـروب‌هـای شـکمبه اسـت (27). تحقیقات نشان داده است که جیره‌های حاوی مقادیر زیاد اوره، بایستی با افزودن منابع کربوهیدرات با تخمیر پذیری زیاد همراه شوند (31). مـلاس یـک خـوراک مـایع حـاوی قنـد بـوده کـه مـی‌توانـد تخمیرپذیری شـکمبه‌ای کربوهیـدرات‌هـای جیـره را افـزایش داده و محرکی برای افزایش ماده خشک مصرفی باشد (22). خـوراک‌هـای مایع حاوی قند می‌توانند موجب افزایش تراکم انرژی جیره و تحریک مصرف ماده خشک شده و بـه عنـوان حـاملی بـرای نیتـروژن غیـر پروتیینی و سایر مواد مغذی مورد استفاده قرار گیرند. قندها می‌توانند با تغییر الگوی تخمیر شکمبه‌ای، غلظت آمونیاک شـکمبه را کـاهش داده و غلظت بوتیرات در شکمبه را افزایش دهنـد (20). مکمـل قنـد می‌تواند تاثیر مثبتی بر رشد میکروبی شکمبه و بـه دنبـال آن هضـم پـذیری فیبـر داشـته باشـد. بـا ایـن حـال، افـزایش بـیش از حـد کربوهیدرات‌های در دسترس شکمبه، منجر به کاهش pH شـکمبه و کاهش قابلیت هضم فیبر خواهد شـد (38). بـر اسـاس بررسـی‌هـای صورت گرفته مطالعه‌ای که به بررسی اثرات اوره آهسته رهش بـا یـا بدون ملاس، بر عملکرد گوسفندان پرواری تغذیه شده با جیره‌های پُر کنسانتره پرداخته باشد، در دسترس نیسـت. ایـن آزمـایش بـا هـدف بررسی اثرات استفاده از اوره آهسته رهش در مقایسه با اوره معمولی، همراه با افزودن مـلاس، در جیـره‌هـای حـاوی علوفـه کـم کیفیـت سرشاخه نیشکر، بر عملکرد رشد، قابلیت هضم مـواد مغـذی، صـفات کمی و کیفی لاشه و تخمیر شکمبه‌ای بره‌های در حال رشـد انجـام شد.

مواد و روش‌ها

محل اجرای آزمایش، دام‌ها و جیره‌های آزمایشی

ایـن آزمـایش در تابسـتان سـال 1395 در ایسـتگاه تحقیقـات دامپروری صفی آباد وابسته به مرکز تحقیقات و آموزش کشـاورزی و منابع طبیعی صفی آباد- دزفول انجام شـد. بـه منظـور اجـرای ایـن تحقیق، تعداد 35 رأس بره نر عربی4 ماهه با وزن 2/7±17/8کیلوگرم مورد اسـتفاده قـرار گرفـت. در ابتـدای دوره عـادت پـذیری، نصـب شماره‌گوش بره‌ها، انجام مراقبت‌های بهداشتی، مایـه کـوبی برعلیـه بیماری‌های آنتروتوکسمی و تب برفکی (شرکت رازی، کرج، تهران) و خوراندن داروی ضد انگل آلبندازول (شـرکت رازک، بروجـرد، ایـران) انجام شد و در ادامه بره‌ها توزین و در 5 گروه آزمایشی با 7 تکرار در جایگاه‌های با ابعاد یکسان، بطور تصادفی مستقر شـدند. جیـره‌هـای آزمایشی (پنج تیمار) شامل دو نوع منبع نیتروژن غیر پروتیینـی (اوره معمولی و اوره آهسته رهش) با و بدون ملاس و گروه شـاهد (بـدون افزودن منبع نیتروژن غیر پروتیینی) بودنـد (جـدول 1). اوره آهسـته رهش استفاده شده با نام تجاری نیتروزا[2] ساخت شرکت دانش بهـاور شایا و حاوی 40 درصد نیتروژن، معادل 250 درصد پروتیین خام بود. ترکیب جیره‌ها شامل 30 درصد بخش علوفه‌ای (سرشاخه نیشـکر) و 70 درصد بخش کنسانتره‌ای بـود. طـول دوره پرواربنـدی 105 روز، شامل 15 روز دوره عادت پذیری به جیره‌های غـذایی و 90 روز دوره اصلی آزمایش بود. در ابتدای دورهٔ اصلی پرواربندی و سـپس هرمـاه یکبار با رعایت 16- 14 ساعت گرسنگی توزین بره‌ها انجام شد. برّه‌ها در طول دوره آزمایش دسترسی آزاد به آب داشته و جیره‌های غـذایی گروه‌های مختلف آزمایشی پس از تهیه، در دو نوبـت 8 صـبح و 16 عصر، بصورت انفرادی، در حد اشتها و بصـورت کـاملاً مخلـوط، بـه مقداری که صبح روز بعد 10 درصد باقیمانده خوراک داشته باشند (3)، در اختیار برّه‌ها قرار مـی‌گرفـت. باقیمانـدهٔ خـوراک، صـبح روز بعـد جمع‌آوری و توزین و میزان خوراک مصرفی بصورت روزانه ثبت شد.

نمونه‌گیری‌ها و تجزیه‌های شیمیایی

بره‌ها هر ماه یکبار قبـل از خـوراک دهـی صـبح تـوزین شـدند. افزایش وزن، ماده خشک مصرفی و راندمان مصرف خوراک، بصورت روزانه محاسبه شد. اندازه‌گیری قابلیت هضـم مـواد مغـذی بـه روش جمع آوری کامل مدفوع، با استفاده از قفس‌های انفرادی با ابعاد0/7 × 1/5 متر انجام شد.

1- Slow Release Urea

2- Nitroza

جدول1- اجزای خوراک و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی

Table1- Ingredients and chemical composition of experimental diets

مورد(درصد) Item(%)	تیمار[1] Treatment[1]				
	کنترل CT	اوره معمولی بدون ملاس UM0	اوره آهسته رهش بدون ملاس SM0	اوره معمولی با ملاس 20 درصد UM20	اوره آهسته رهش با ملاس 20 درصد SM20
اجزای جیره‌های آزمایشی بر اساس درصد ماده خشک Ingredients of experimental diets, % DM					
سرشاخه نیشکر Sugar cane tops	30	30	30	30	30
دانه ذرت Corn grain	30	44	44	24	24
سبوس گندم Wheat bran	21.3	17.4	17.2	15	14.8
کنجاله سویا Soybean meal	17	5	5	7.4	7.4
ملاس نیشکر Cane molasses	0	0	0	20	20
اوره Urea	0	1.6	0	1.6	0
اوره آهسته رهش (نیتروزا)[2] Slow Release urea (Nitroza)[2]	0	0	1.8	0	1.8
کربنات کلسیم Ca carbonate	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94
سولفات سدیم Sodium sulfate	0	0.26	0.26	0.26	0.26
نمک Salt	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
مکمل مواد معدنی و ویتامینی[3] Mineral and vitamin permix[3]	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
ترکیبات مواد مغذی جیره‌ها (بر اساس ماده خشک) Nutrient composition of diets (DM)					
انرژی قابل متابولیسم (مگاکالری در کیلوگرم)[4] Metabolizable Energy (Mcal/kg)[4]	2.51	2.45	2.45	2.43	2.43
پروتیین خام (درصد) Crude Protein (%)	15.1	15.1	15.1	15.1	15.1
ظرفیت تخمیر پذیری اوره UFP[5] (g/kg)	1.93	7.00	6.69	5.40	5.35
پروتیین قابل تجزیه در شکمبه (درصد) Rumen Degradable Protein (%)	6.7	9.1	9.1	9.5	9.5
پروتیین قابل تجزیه در شکمبه (درصد پروتیین خام) Rumen Degradable Protein (% CP)	44.4	60.3	60.3	62.9	62.9
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (درصد) Neutral Detergent Fiber (%)	40.78	38.13	38.03	35.38	35.28
الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد) Acid Detergent Fiber (%)	20.23	18.77	18.74	17.90	17.87
کربوهیدرات غیر الیافی (درصد) Non Fiber Carbohydrate[6] (%)	40.8	43.2	43.2	44.1	44.1
همی سلولز (درصد) Hemicellulose (%)	20.55	19.36	19.29	17.48	17.42
عصاره اتری (درصد) Ether Extract (%)	3.78	3.95	3.94	3.02	3.01
کلسیم (درصد) Calcium (%)	0.8	0.7	0.7	0.9	0.9
فسفر (درصد) Phosphor (%)	0.5	0.5	0.5	0.4	0.4

[1] CT - کنترل، UM0 - اوره معمولی بدون ملاس، UM20 - اوره معمولی با ملاس 20 درصد، SM0 - اوره آهسته رهش بدون ملاس، SM20 - اوره آهسته رهش با ملاس 20 درصد.

[2] اوره آهسته رهش حاوی 40 درصد نیتروژن و معادل 250 درصد پروتیین خام، ساخته شده توسط شرکت دانش بهاور شایا.

[3] ساخته شده توسط شرکت ساینس، تهران، ایران. مکمل (در هر کیلوگرم) حاوی 60 گرم سدیم، 90 گرم پتاسیم، 180 گرم کلسیم، 20 گرم منیزیم، 3 گرم آهن،3 گرم روی، 2 گرم منگنز، 1 میلی گرم سلنیم، 300 میلی گرم مس، 100 میلی گرم کبالت، 100 میلی گرم ید، 100 میلی گرم ویتامین E ، 500000 واحد ویتامین A، 100000 واحد ویتامین D_3 می‌باشد.

[1] CT-Control, UM0- Urea Without Molasses, UM20- Urea With 20% Molasses, SM0- Slow Release Urea Without Molasses, SM20- Slow Release Urea With20% Molasses, SEM-standard error of the means.

[2] Slow release urea, contained 40% nitrogen and 250% equivalent crude protein, manufactured by Danesh Bahavar Shaya Co. www.parsa78.ir.

[3] Manufactured by Science Supplement, Tehran, Iran. The premix contained (per kg): 60 g Na,90 g P, 180g Ca, 20 g Mg, 3 g Fe, 3 g Zn, 2 g Mn, 1 mg Se, 300 mg Cu, 100 mg Co, 100 mg I_2, 100 mg vitamin E, 500000 IU vitamin A, 100000 IU vitamin D_3.

[4] Nutrient requirements of small ruminants 2007.

[5] Urea fermentation potential (Burroughs et al, 1975).

[6] Non fiber carbohydrate (NFC)= 100-(NDF+CP+EE+Ash).

برای اندازه‌گیری قابلیت هضم در پایان دوره پرواربندی، طی 5 روز متوالی روزانه قبل از خوراک دهی صبح، کل مدفوع روز قبل، از طریق سینی تعبیه شده در قسمت پایین قفس‌های انفرادی جمع آوری، توزین و جهت تعیین ترکیبات شیمیایی، نمونه‌های 100 گرمی از مدفوع هر دام گرفته شد. نمونه‌های گرفته شده بلافاصله به آون منتقل و در دمای 100 درجه سانتی گراد به مدت 24 ساعت خشک شدند. در پایان مرحله نمونه برداری (روز پنجم) نمونه‌های گرفته شده و خشک شده از هر دام با هم مخلوط، ویک نمونه 50 گرمی اخذ شده و تا هنگام انجام تجزیه‌های شیمیایی، در فریزر 20- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

پس از طی دورهٔ پرواربندی و توزین نهایی، به منظور بررسی اثر جیره‌های غذایی متفاوت بر صفات کمی و کیفی و قطعات لاشه، از هر گروه آزمایشی 4 رأس برّه که نزدیک‌ترین وزن نهایی را نسبت به میانگین گروه خود نشان دادند انتخاب و ذبح شدند. وزن کله، پاچه‌ها، پوست، معدهٔ پر، معدهٔ خالی، رودهٔ کوچک با محتویات و بدون محتویات، رودهٔ بزرگ با محتویات و بدون محتویات، قلب، شش‌ها، جگر، طحال، کلیه‌ها، چربی داخلی، اندازه‌گیری شد. وزن لاشه پس از کشتار به عنوان وزن لاشه گرم ثبت شده و پس از نگهداری لاشه‌ها به مدت 24 ساعت در درجهٔ حرارت 5 + درجه سانتی‌گراد، توزین شده و به عنوان وزن لاشه سرد در نظر گرفته شد. لاشهٔ سرد به دو نیم لاشهٔ راست و چپ تقسیم و نیم لاشه‌ها توزین و طول و عمق لاشه اندازه‌گیری شد. در ادامه نیم لاشهٔ راست به قطعات گردن، سردست، سرسینه و قلوه‌گاه، راسته، ران و دُنبه تقسیم و توزین شد. سطح مقطع راسته نیز پس از بُرش بین دنده‌های 12 و 13 و قرار دادن کاغذ کالک ترسیم و سپس شکل مورد نظر اسکن و با استفاده از نرم افزار اتوکد نسخه 2009 محاسبه شد. همچنین ضخامت چربی پشتی با استفاده از کولیس روی دندهٔ 12 اندازه‌گیری شد. جهت اندازه گیری pH گوشت، حدود 10 گرم نمونه گوشت عضله بین دنده های 12 و 13 جدا شده و بخوبی کوبیده و در 100 گرم آب دوبار تقطیر قرار داده شد. پس از 24 ساعت مخلوط مذکور از کاغذ صافی مخصوص زبر (واتمن متوسط با قطر 150 میلی متر) عبور داده شد (45). سپس pH با استفاده از pH متر پورتابل (مدل 315i/SET,WTW ساخت کشور آلمان) اندازگیری شد.

اندازه‌گیری فراسنجه‌های رنگ گوشت بر اساس سامانه (روشنایی)[1] L، (قرمزی)[2] a، و (زردی)[3] b روی نمونه‌های عضله راسته بین دنده 6 و 10 با استفاده از دستگاه رنگ سنج (Konica Minolta مدل CR 400 ساخت کشور ژاپن) با 3 بار اندازه‌گیری برای هر نمونه انجام شد. متوسط مقادیر جهت آنالیز استفاده شد. اشباع شدگی رنگ[4] (کروما) از طریق فرمول $(a^2+b^2)^{1/2}$ و زاویه هیو از طریق فرمول Arctag(a / b) محاسبه شدند (13).

نمونه‌گیری از خون جهت اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی، در انتهای دوره پرواربندی از ناحیه سیاهرگ گردن با استفاده از سرنگ‌های ونوجکت سه ساعت پس از خوراک دهی صبح، انجام شد. سرم نمونه‌های خون پس از جدا سازی، تا زمان آنالیز، در دمای 25- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

جهت اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی، اسیدهای چرب فرار و pH مایع شکمبه، سه ساعت پس از خوراک دهی صبح، نمونه‌گیری از مایع شکمبه با استفاده از سوند دهانی و پمپ خلاء، انجام شد. نمونه‌ها توسط پارچه متقال چهار لایه صاف شده و با دور 3500 به مدت 15 دقیقه سانتریفوژ شدند. یک نمونه از مایع شکمبه صاف شده (10 میلی لیتر) با 0/1 میلی لیتراسید سولفوریک 7/2 نرمال مخلوط شده و تا هنگام اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرار در دمای 25- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (8). همچنین جهت اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه، یک نمونه از مایع شکمبه صاف شده (10 میلی لیتر) با 10 میلی لیتر اسیدکلریدریک 0/2 نرمال مخلوط شده و تا هنگام انجام آزمایش در دمای 25- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

تعیین ترکیبات شیمیایی

تعیین ماده‌خشک (DM)، پروتیین خام (CP)، خاکستر (Ash)، چربی خام (EE)، ماده آلی (OM)، با روش تجزیه تقریبی و اندازه‌گیری دیواره سلولی (NDF) و فیبر نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) نمونه‌ها با روش ون سوست[5] و فن آوری آنکوم انجام شد. تصحیح مقادیر دیواره سلولی و فیبر نامحلول در شوینده اسیدی برای خاکستر صورت گرفت. مقدار همی‌سلولز، از تفاضل بین دیواره سلولی و فیبر نامحلول در شوینده اسیدی محاسبه شد. غلظت آمونیاک مایع شکمبه با استفاده از روش فنل- هیپوکلریت (16) تعیین شد. برای تعیین اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه از روش توصیه شده (41) استفاده شد. اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرار با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی (مدل Philips PU4410 ساخت کشورآمریکا) با ستون شیشه‌ای پلی اتیلن گلیکول[6] 10 (طول دو متر و قطر 45 میلی متر) و

1- Lightness
2- Redness
3- Yellowness

4- Measure of colour vividness
5- Van Soest
6- PEG

نوع استاندارد 4-متیل والریک اسید، اندازه‌گیری شد.

مدل‌های آماری

تجزیه و تحلیل داده‌های عملکردی شامل خوراک مصرفی روزانه، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی و قابلیت هضم مواد مغذی بر پایه طرح کاملاً تصادفی با اندازه‌گیری‌های تکراری و رویه Mixed نرم افزار SAS (نسخه 9/1 ، 2003) انجام شد. در مدل آماری از بره‌ها به عنوان اثر تصادفی و از وزن اولیه به عنوان کوواریت و مدل متقارن مرکب[1] استفاده شد (مدل 1). تجزیه و تحلیل داده‌های صفات تجزیه لاشه بر اساس طرح کاملاً تصادفی با در نظر گرفتن وزن زنده شکم خالی به عنوان کوواریت انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه، نیتروژن آمونیاکی و pH مایع شکمبه بر اساس طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تمام مقایسات توسط آزمون توکی و با سطح اطمینان 95 درصد صورت گرفت.

$$Y_{ijk} = \mu + T_j + \delta_{ij} + t_k + (T\times t)_{ik} + B(X_{ij} - \overline{X}_{..}) + e_{ijk} \quad (1)$$

$$Y_{ij} = \mu + T_j + B(X_{ij} - \overline{X}_{..}) + e_{ij} \quad (2)$$

که در مدل (1)، Y_{ijk} = متغیر وابسته، μ = میانگین صفت مورد آزمایش، T_j = اثر تیمار (شامل دو منبع نیتروژن غیر پروتیینی اوره معمولی و اوره آهسته رهش، با و بدون ملاس و گروه کنترل)، δ_{ij} = اشتباه تصادفی درون تیمار، t_k = اثر دوره (زمان)، $(T\times t)_{ik}$ = اثر متقابل تیمار در زمان، $B(X_{ij} - \overline{X}_{..})$ = اثر متغیر کمکی (وزن اولیه یا وزن زنده شکم خالی به عنوان کوواریت) و e_{ijk} = اشتباه تصادفی درون حیوانات و در مدل (2) e_{ij} = اثر خطای آزمایشی و بقیه همانند مدل (1) می‌باشند.

نتایج و بحث

عملکرد رشد، قابلیت هضم و تخمیر شکمبه‌ای

اثر جیره‌های آزمایشی بر وزن نهایی پروار، ماده خشک مصرفی و افزایش وزن روزانه و همچنین راندمان مصرف خوراک بره‌ها در جدول2 نشان داده شده است. خوراک مصرفی و افزایش وزن روزانه، راندمان مصرف خوراک و وزن نهایی پروار تحت تاثیر جایگزینی اوره معمولی با اوره آهسته رهش و نیز افزودن ملاس قرار نگرفت (P>0/05). همچنین در بررسی مقایسات گروهی تیمارها، بهبودی در صفات عملکردی ناشی از اثر جیره‌های غذایی مشاهده نشد (P>0/05) (جدول 2).

یافته‌های بورگ و همکاران (14) نشان داد که متعادل کردن و هماهنگی بین تجزیه کربوهیدرات‌ها و آزاد سازی منابع نیتروژن غیر پروتیینی می‌تواند کارائی استفاده از نیتروژن در دسترس و در نتیجه عملکرد حیوان را بهبود دهد در عین حال استفاده از یک منبع پوشش دار اوره آهسته رهش در مقایسه با اوره معمولی (سطوح 1/2 درصد اوره و سطوح 1/3 و 3/1 درصد اُپتی ژن)، و نیز جایگزین نمودن کنجاله پنبه دانه با اوره آهسته رهش در جیره، اثر معنی‌داری بر وزن نهایی، افزایش وزن روزانه، ماده خشک مصرفی و راندمان غذایی گوساله‌های در حال رشد نداشت. در آزمایش چردتونگ و همکاران (19) استفاده از اوره آهسته رهش (اوره کلسیمی) درجیره گاوهای شیرده، اثری بر خوراک مصرفی روزانه نداشت (P>0/05). نتایج مشابهی نیز با استفاده از اُپتی ژن توسط گالو و همکاران (23) بدست آمده است. همچنین، استفاده از جیره‌های حاوی 1/1 درصد اُپتی ژن به همراه 0/6 درصد اوره، جایگزین کنجاله سویا در خوراک مصرفی گوساله‌های نر در حال رشد،تفاوت معنی‌داری را از نظر ماده خشک مصرفی در مقایسه با جیره‌های بدون اُپتی ژن و حاوی 0/6 درصد اوره، به دنبال نداشت (43). بر خلاف این نتیجه، استفاده از اوره آهسته رهش در تغذیه گوساله‌های در حال رشد باعث کاهش اندکی در ماده خشک مصرفی شد (50). همچنین استفاده از اُپتی ژن برای دست یابی به50 درصد نیاز شکمبه به نیتروژن، در تغذیه گوساله‌ها، در مقایسه با مصرف اوره معمولی باعث کاهش ماده خشک مصرفی شد (51).

فرض بر این است که در جیره‌های متعادل، جایگزینی کنجاله سویا با اوره آهسته رهش، هم زمانی آزاد سازی نیتروژن و انرژی، در محیط شکمبه و بهره‌وری پروتیین و تولید پروتیین میکروبی را در گوساله‌های پرواری، تحت تاثیر قرار نخواهد داد (14). در نتیجه، جایگزینی کنجاله سویا با اوره آهسته رهش، قابلیت هضم جیره و به همین ترتیب مصرف حیوان را حفظ خواهد کرد. چندین سازوکار برای توجیه چگونگی تاثیر منابع نیتروژن غیر پروتیینی بر مصرف خوراک پیشنهادشده است. آبکافت سریع اوره در شکمبه و افزایش نیتروژن آمونیاکی جذب شده از اپی‌تلیوم شکمبه، ممکن است سبب مسمومیت حیوان شود (28). همچنین اولدهام (39) افزایش مصرف ماده خشک در جیره‌های حاوی کنجاله سویا در مقایسه با اوره را به بهبود عرضه اسیدهای آمینه ناشی از کنجاله سویا مطرح کرده بود. با این حال مطالعات بیشتری برای بررسی عملکرد حیوان در توجیه چگونگی اثر اوره آهسته رهش بر مصرف و افزایش وزن حیوان لازم است.

در آزمایش حاضر استفاده از ملاس به همراه اوره معمولی ویا اوره آهسته رهش در مقایسه با گروه شاهد تأثیری بر عملکرد پرواری بره‌ها نداشت(P>0/05) ولی از نظر عددی مقادیر مصرف ماده خشک روزانه با افزودن ملاس به اوره و اوره آهسته رهش افزایش یافت (P=0/11) (جدول 2).

1- Compound symmetry

جدول ۲- اثر جیره‌های آزمایشی بر عملکرد رشد بره‌ها

Table 2- Effect of experimental diets on growth performance of lambs

صفات Traits	جیره‌های آزمایشی[۱] Experimental diets[1]					SEM[2]	Contrasts[3]					Effects[4]		
	CT	UM0	UM20	SM0	SM20		C1	C2	C3	C4	C5	R[3]	T[3]	R×T[3]
وزن شروع دوره (کیلوگرم) Initial body weight (kg)	18.3	17.8	17.5	17.8	17.4	0.46	0.94	0.58	0.87	0.87	0.77	---	---	---
وزن پایان دوره (کیلوگرم) Final body weight (kg)	32.1	31.7	31.4	29.8	29.8	0.81	0.11	0.13	0.45	0.04	0.39	---	---	---
میانگین خوراک مصرفی روزانه (کیلوگرم) Average daily intake (kg)	0.96	0.90	0.98	0.87	0.916	0.024	0.34	0.25	0.11	0.18	0.69	0.283	<0.001	0.023
میانگین افزایش وزن روزانه (کیلوگرم) Average daily gain (kg)	0.15	0.15	0.15	0.14	0.14	0.007	0.20	0.33	0.91	0.12	0.43	0.553	<0.001	0.002
ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio	6.58	6.27	6.94	6.51	6.67	0.168	0.97	0.97	0.24	0.99	0.96	0.729	0.009	0.077

[۱] CT کنترل، UM0 - اوره معمولی بدون ملاس، UM20 - اوره معمولی با ملاس ۲۰ درصد، SM0 - اوره آهسته رهش بدون ملاس، SM20 - اوره آهسته رهش با ملاس ۲۰ درصد،

[۲] SEM: میانگین خطای معیار

[۳] مقایسات : C1- مقایسه جیره کنترل با جیره حاوی منابع نیتروژن غیر پروتیینی، C2- مقایسه جیره اوره معمولی با جیره اوره آهسته رهش، C3- مقایسه جیره با ملاس با جیره بدون ملاس، C4- مقایسه جیره کنترل با جیره اوره آهسته رهش، C5- مقایسه جیره کنترل با جیره اوره معمولی

[۴] R – اثر جیره، T – اثر زمان، R×T – اثر متقابل بین زمان و جیره.

[1] CT-Control, UM0- Urea Without Molasses, UM20- Urea With 20% Molasses, SM0- Slow Release Urea Without Molasses, SM20- Slow Release Urea With20% Molasses,

[2] SEM-standard error of the means.

[3] Contrasts: C1- (CT vs UM0, UM20, SM0, SM20), C2- (UM0, UM20 vs SM0, SM20), C3- (UM0, SM0 vs UM20, SM20), C4- (CT vs SM0, SM20), C5- (CT vs UM0, UM20).

[4] R-Effect of ration, T-Effect of time, R×T- Inetraction between ration and time.

جدول ۳- اثر جیره‌های آزمایشی بر قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی

Table 3- Effect of experimental diets on apparent digestibility of nutrient

مورد (درصد) Item(%)	جیره‌های آزمایشی Experimental diets[1]					SEM[2]	Contrast[3]				
	CT	UM0	UM20	SM0	SM20		C1	C2	C3	C4	C5
ماده خشک Dry matter	67.5	66.9	68.3	67.4	66.8	0.50	0.919	0.735	0.795	0.818	0.963
ماده آلی Organic matter	73.0	72.6	74.6	72.0	73.6	0.47	0.879	0.479	0.135	0.878	0.668
الیاف نامحلول در شوینده خنثی Neutral detergent fiber	54.4	54.2	52.9	49.2	47.1	1.11	0.189	0.035	0.473	0.046	0.775
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی Acid detergent fiber	47.8	46.9	41.9	43.0	39.9	1.39	0.192	0.369	0.220	0.127	0.392
پروتیین خام Crud protein	71.6	71.5	73.4	71.1	72.1	0.48	0.745	0.496	0.250	0.986	0.566
عصاره اتری Ether extract	81.8	80.6	80.9	81.6	79.5	0.54	0.199	0.824	0.227	0.207	0.272

[۱] CT - کنترل، UM0 - اوره معمولی بدون ملاس، UM20 - اوره معمولی با ملاس ۲۰ درصد، SM0 - اوره آهسته رهش بدون ملاس، SM20 - اوره آهسته رهش با ملاس ۲۰ درصد،

[۲] SEM: میانگین خطای معیار

[۳] مقایسات: C1- مقایسه جیره کنترل با جیره حاوی منابع نیتروژن غیر پروتیینی، C2- مقایسه جیره اوره معمولی با جیره اوره آهسته رهش، C3- مقایسه جیره با ملاس با جیره بدون ملاس، C4- مقایسه جیره کنترل با جیره اوره آهسته رهش، C5- مقایسه جیره کنترل با جیره اوره معمولی

[1]CT-Control, UM0- Urea Without Molasses, UM20- Urea With 20% Molasses, SM0- Slow Release Urea Without Molasses, SM20- Slow Release Urea With20% Molasses. SEM-standard error of the means.

[3] Contrasts: C1- (CT vs UM0, UM20, SM0, SM20), C2- (UM0, UM20 vs SM0, SM20), C3- (UM0, SM0 vs UM20, SM20), C4- (CT vs SM0, SM20), C5- (CT vs UM0, UM20).

ملاس یک خوراک مایع حاوی قند بوده که می‌تواند باعث افزایش ماده خشک مصرفی شود (20). لیزاروزو و همکاران (32) اثرات جیره‌های غذایی شامل تیمارهای اوره معمولی، اوره پوشش داده شده با اتیل سلولز، اوره پوشش داده شده با اتیل سلولز به همراه ملاس، اُپتی‌ژن[1] و اُپتی‌ژن به همراه ملاس را در جیره غذایی بره‌های در حال رشد، تغذیه شده با علوفه‌های کم کیفیت، بررسی کردند. ملاس به مقدار 1/2 گرم به ازای یک کیلوگرم وزن زنده استفاده شد. بهبودی در خوراک مصرفی حیوان، ناشی از مصرف نیتروژن غیر پروتیینی و اثرات هم افزایی ناشی از افزودن ملاس در ترکیب با اوره آهسته رهش دیده نشد. در تطابق با یافته‌های آزمایش حاضر، استفاده از کنسانتره حاوی 12 درصد ملاس، در تغذیه گاوهای شیرده با نسبت مصرف علوفه به کنسانتره 70 به 30، ماده خشک مصرفی روزانه حیوان را تحت تاثیر قرار نداد (15). در آزمایش چردتونگ و همکاران (19) استفاده از اوره کلسیمی در گاوهای شیرده تغذیه شده با کاه گندم بصورت آزاد به عنوان منبع علوفه‌ای جیره، به همراه کاساوا، ماده خشک مصرفی روزانه را تغییر نداد ولی مصرف ماده آلی و قابلیت هضم ماده آلی و دیواره سلولی افزایش یافت. احتمالاً اوره کلسیمی نسبت به اوره معمولی با سرعت کمتری آبکافت شده، و با همراه شدن منبع انرژی در دسترس حاصل از کربوهیدرات‌های ساده همانند کاساوا، آمونیاک بصورت کارآمدتری توسط میکروارگانیزم‌های شکمبه مورد استفاده قرار گرفته است. چنانکه در همین راستا، قابلیت هضم مواد مغذی در جیره‌ی اوره کلسیمی به همراه کاساوا، بالاتر بود(19).

تیمارها اثر معنی‌داری بر قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی، پروتیین خام، چربی خام، دیواره سلولی و دیواره سلولی بدون همی سلولز ندشتند (P>0/05) (جدول 3). هم راستا با نتایج آزمایش حاضر، جایگزینی کنجاله سویا با اوره آهسته رهش در سطوح کنسانتره کم (40 درصد) و زیاد (80 درصد)، در جیره‌ی غذایی گوساله‌های در حال رشد، تاثیری برقابلیت هضم مواد مغذی نداشت (11). امکان تامین کل نیاز پروتیین قابل متابولیسم در گاوهای گوشتی از منبع پروتیین میکروبی تولید شده در شکمبه (37) می‌تواند توجیه کننده‌ی عدم تاثیر وارد کردن اوره آهسته رهش در جیره روی قابلیت هضم ظاهری پروتیین خام باشد (11). بر خلاف نتایج آزمایش حاضر در آزمایش دیگری با استفاده از گاوهای شیرده، استفاده از اوره کلسیمی قابلیت هضم ماده آلی و دیواره سلولی را افزایش داد. احتمالاً قابلیت هضم بالاتر، ناشی از بهبود نامتعادلی مواد مغذی، از طریق افزایش فراهمی انرژی ناشی از منابع غنی از کربوهیدرات‌های ساده نظیر کاساوا، برای باکتری‌های شکمبه و فعالیت بهتر تخمیر شکمبه‌ای بوده است (19). از جمله دلایلی که می‌تواند توضیح دهنده‌ی پاسخ متفاوت اوره آهسته رهش در این مطالعه، با آزمایش چردتونگ و همکاران (19) باشد، می‌توان به سطح بالای علوفه در مطالعه مذکور اشاره کرد (میانگین 77/8 درصد علوفه در جیره) که متفاوت با آزمایش حاضر می‌باشد.

در آزمایش حاضر اوره آهسته رهش و ملاس بر مقادیر ماده خشک مصرفی ونیز قابلیت هضم مواد مغذی، اثر معنی داری نداشتند (P>0/05) و با توجه به ساز و کار بیان شده، احتمالاً سرعت آبکافت اوره آهسته رهش، به میزانی که بتواند کارآمدی میکروارگانیزم‌های شکمبه در استفاده از منبع انرژی در دسترس حاصل از ملاس را بهبود دهد، کاهش نیافته است.

تخمیر شکمبه‌ای و متابولیت‌های خون

نتایج مربوط به اثر جیره‌های آزمایشی بر فراسنجه‌های شکمبه و متابولیت‌های خون در جدول4 نشان داده شده است. غلظت استات در جیره‌های حاوی منابع نیتروژن غیر پروتیینی نسبت به جیره شاهد (P=0/043) و نیز در جیره‌های حاوی اوره آهسته رهش نسبت به اوره معمولی (P<0/001) پایین‌تر بود. استفاده از اوره آهسته رهش در جیره موجب افزایش غلظت پروپیونات در مقایسه با جیره شاهد شد (P=0/024). غلظت مجموع اسیدهای چرب فرار در جیره‌های حاوی اوره آهسته رهش نسبت به جیره کنترل (P=0/005)، و نیز نسبت به جیره‌های حاوی اوره معمولی (P<0/001) بالاتر بود.

هم راستا با یافته‌های این آزمایش، برخی محققین نشان دادند که که اوره آهسته رهش باعث کاهش نسبت استات و افزایش نسبت پروپیونات و در نتیجه کاهش نسبت استات به پروپیونات می‌شود (2). همین نتایج در بررسی اثرات افزودن توام اوره آهسته رهش (اُپتی‌ژن) و بنتونیت سدیم، توسط چگنی و همکاران (18) نیز مشاهده شد. غلظت مجموع اسیدهای چرب فرار تحت تاثیر جیره‌های حاوی اوره آهسته رهش (اوره کلسیمی) و اوره معمولی، قرار نگرفت ولی نسبت پروپیونات، تحت تاثیر اوره آهسته رهش، افزایش یافت (19). کاهش تولید استات در جیره‌های حاوی منابع نیتروژن غیر پروتیینی نسبت به جیره کنترل احتمالاً ناشی از استفاده از استات برای تولید بوتیرات در این جیره‌ها باشد (58). همچنین آزمایش انجام شده توسط سونگ و کنلی (49) نشان داد که وارد کردن کلرید آمونیوم به شکمبه باعث افزایش غلظت آمونیاک شکمبه و به دنبال آن کاهش استات و افزایش پروپیونات و کاهش نسبت استات به پروپیونات می شود. در آزمایش حاضر نیز غلظت نیتروژن آمونیاکی در جیره‌های حاوی اوره آهسته رهش نسبت به گروه کنترل بالاتر بود (P=0/099) (جدول 4) و احتمالاً سازوکار یاد شده می‌تواند توجیه کننده تغییرات غلظت استات، پروپیونات و نسبت آنها باشد.

1- Optigen

جدول ٤- اثر جیره‌های آزمایشی بر فراسنجه‌های شکمبه و متابولیت‌های خون بره‌ها[1]

Table 4- Effect of experimental diets on ruminal parameters and blood metabolites of lambs[1]

مورد(درصد) Item (%)	جیره های آزمایشی[2] Experimental diets[2]					SEM[3]	Contrasts[4]				
	CT	UM0	UM20	SM0	SM20		C1	C2	C3	C4	C5
استات (درصد) Acetate %	71.9[a]	68.3[ab]	63.3[b]	62.7[b]	62.3[b]	1.00	0.043	<0.001	0.411	<0.001	0.966
پروپیونات (درصد) Propionate %	14.3[b]	17.7[ab]	18.8[ab]	19.8[a]	18.5[ab]	0.66	0.067	0.115	0.082	0.024	0.286
بوتیرات (درصد) Butyrate %	12.3[b]	12.3[b]	16.6[ab]	15.6[ab]	18.9[a]	0.70	0.644	<0.001	0.327	0.029	0.149
ایزووالریت (درصد) Isovalerate %	0.76	0.97	0.71	1.05	0.66	0.05	0.035	0.111	0.247	0.180	0.012
والریت (درصد) Valerate%	0.74	0.71	0.61	0.74	0.71	0.04	0.658	0.441	0.489	0.929	0.473
کل اسیدهای چرب فرار (میلی‌مول بر لیتر) Total VFA (mmol/l)	52.1[b]	58.2[ab]	68.6[ab]	70.6[a]	73.3[a]	2.33	0.102	<0.001	0.855	0.005	0.945
استات به پروپیونات Acetate/Propionate	5.20[a]	3.91[ab]	3.43[b]	3.28[b]	3.60[b]	0.21	0.063	0.006	0.039	0.006	0.598
نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم بر دسی لیتر) $N\text{-}NH_3$ (mg/dl)	38.2[b]	52.1[ab]	53.6[ab]	55.4[a]	46.9[ab]	2.33	0.172	0.307	0.046	0.099	0.400
pH شکمبه Rumen pH	5.89[b]	6.72[a]	6.57[ac]	6.84[a]	6.08[bc]	0.08	<0.001	0.864	<0.001	0.001	0.002
نیتروژن اوره‌ای خون (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) Blood urea-N (mg/dl)	18.6[bc]	22.4[a]	17.8[bc]	20.6[ac]	21.4[ac]	0.39	0.658	0.386	0.916	0.961	0.449
گلوکز (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) Glucose (mg/dl)	60.5[a]	58.6[a]	57.3[ab]	52.7[b]	56.4[ab]	0.80	0.028	0.217	0.818	0.014	0.123

[1]میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (p<۰/۰۵).

[۲]CT - کنترل، UM0 - اوره معمولی بدون ملاس، UM20 - اوره معمولی با ملاس ۲۰ درصد، SM0 - اوره آهسته رهش بدون ملاس، SM20 - اوره آهسته رهش با ملاس ۲۰ درصد،

[۳] SEM: میانگین خطای معیار

[۴] مقایسات: C1- مقایسه جیره کنترل با جیره حاوی منابع نیتروژن غیر پروتیینی، C2- مقایسه جیره اوره معمولی با جیره اوره آهسته رهش، C3- مقایسه جیره با ملاس با جیره بدون ملاس، C4- مقایسه جیره کنترل با جیره اوره آهسته رهش، C5- مقایسه جیره کنترل با جیره اوره معمولی

[1]Means in the same row with different letters (a, b, c) differ (P<0.05).

[2]CT-Control, UM0- Urea Without Molasses, UM20- Urea With 20% Molasses, SM0- Slow Release Urea Without Molasses, SM20- Slow Release Urea With20% Molasses.

[3]SEM-standard error of the means.

[3] Contrasts: C1- (CT vs UM0, UM20, SM0, SM20), C2- (UM0, UM20 vs SM0, SM20), C3- (UM0, SM0 vs UM20, SM20), C4- (CT vs SM0, SM20), C5- (CT vs UM0, UM20).

در آزمایش حاضر افزایش غلظت پروپیونات در جیره‌های حاوی منابع نیتروژن غیر پروتیینی نسبت به گروه شاهد احتمالاً ناشی از افزایش کربوهیدرات‌های غیر فیبری در این جیره‌ها نسبت به گروه شاهد می‌باشد. برای متعادل کرن جیره‌ها از نظر پروتیین خام، به دنبال وارد کردن منابع نیتروژن غیر پروتیینی در جیره‌ها، سطوح کنجاله سویا کاهش و دانه ذرت افزایش یافته و در نتیجه، این جیره‌ها مقادیر کربوهیدرات غیر فیبری بالاتری نسبت به گروه شاهد داشتند (جدول 1). با توجه به یافته‌های کالومنی و همکاران (17) این امر موجب افزایش تولید پروپیونات می‌شود.

در مقابل لیزارازو و همکاران (32) در آزمایش خود، اثرات معنی‌داری را از نظر غلظت استات، پروپیونات، بوتیرات، و کل اسیدهای چرب فرار شکمبه، ناشی از افزودن دو منبع اوره آهسته رهش (اُپتی‌ژن و یک نوع اوره پوشش داده شده با اتیل سلولز) و اوره معمولی مخلوط با ملاس، درجیره غذایی بره‌های در حال رشد، مشاهده نکردند.

در آزمایش حاضر، غلظت مجموع اسیدهای چرب فرار در تیمارهای مختلف نشان می‌دهد که اوره آهسته رهش و اوره معمولی در مقایسه با سویا، اثرات منفی بر تخمیر شکمبه نداشته‌اند. با توجه به افزایش pH (P<0/001)، و مجموع اسیدهای چرب فرار (P=0/102) ناشی از وارد کردن منابع نیتروژن غیر پروتیینی به جیره، می‌توان فرض کرد که بهره‌وری تخمیر بهبود یافته است. کاهش نسبت استات به پروپیونات از یک طرف باعث کاهش تولید متان ناشی از استات شده واز طرف دیگر افزایش پروپیونات سبب افزایش ابقای انرژی، در اثر تخمیر پروپیونات که بهره‌وری بیشتری از نظر انرژی‌زایی دارد، می‌شود (18).

غلظت بوتیرات نسبت به جیره شاهد، با همراه شدن ملاس در جیره‌های حاوی اوره (P=0/102) و اوره آهسته رهش (P=0/005)، افزایش یافت. افزایش عددی غلظت پروپیونات (P=0/082) در جیره‌های حاوی ملاس نسبت به جیره‌های بدون ملاس، کاهش نسبت استات به پروپیونات (P=0/039) را به دنبال داشت(جدول 3). در همین راستا آزمایشات انجام شده توسط کامپا و همکاران (31) نشان داد که هم زمان با افزایش سطح استفاده منابع کربوهیدرات ساده (کاساوا) در کنسانتره گوساله‌های در حال رشد، غلظت پروپیونات بصورت خطی از 17/5 به 26/1 میلی مول در لیتر افزایش یافت. قندها می‌توانند موجب تغییر الگوی تخمیر شکمبه‌ای شوند و بطور مشخص غلظت آمونیاک شکمبه را کاهش داده و غلظت بوتیرات شکمبه‌ای را افزایش دهند (20). نتایج آزمایش انجام شده توسط مارتل و همکاران (34) نشان داد که استفاده از 5 درصد ملاس در جیره گاوهای شیرده، باعث افزایش مجموع اسیدهای چرب فرار و کاهش نسبت مولار پروپیونات و افزایش نسبت مولار بوتیرات مایع شکمبه می‌شود. گولومبسکی و همکاران (24) نشان دادند که در جیره گاوهای شیرده، افزایش قند باعث افزایش نسبت مولار بوتیرات و کاهش نسبت مولار پروپیونات شده، ولی اثری روی سایر فراسنجه‌های تخمیری شکمبه ندارد. در مقابل لیزارازو و همکاران (32) در آزمایش خود، اثرات معنی‌داری را از نظر غلظت استات، پروپیونات، بوتیرات، و کل اسیدهای چرب فرار شکمبه، ناشی از همراه شدن ملاس با منابع اوره آهسته رهش (اُپتی‌ژن و یک نوع اوره پوشش داده شده با اتیل سلولز) و اوره معمولی مشاهده نکردند.

در آزمایش حاضر، افزایش غلظت بوتیرات ناشی از افزودن ملاس به جیره، منطبق با یافته‌های آرابا و همکاران (6) بوده و ساز و کار احتمالی آن افزایش جمعیت پروتوزوآها در جیره‌های حاوی ملاس نسبت به سایر میکروارگانیزم‌های شکمبه است. پروتوزوآها نسبت به سایر میکروارگانیزم‌های شکمبه بوتیرات بیشتری تولید می‌کنند. به همین دلیل پروتوزوآزدائی شکمبه باعث کاهش نسبت بوتیرات می‌شود (35).

تولید اسیدهای چرب فرار در شکمبه، بطور عمده، ناشی از تخمیر کربوهیدرات‌های جیره می‌باشد (32) با توجه به کاهش مقدار نیتروژن آمونیاکی شکمبه در جیره‌های حاوی ملاس نسبت به بدون ملاس (P=0/046) و مقادیر pH مطلوب برای فعالیت بهینه محیط شکمبه (11) و نیز با توجه به تغییرات ایجاد شده در غلظت اسیدهای چرب فرار ناشی از همراه شدن ملاس در جیره، به نظر می‌رسد افزودن ملاس در حفظ شرایط مطلوب شکمبه تاثیرات مثبتی داشته است.

در جیره‌های حاوی منابع نیتروژن غیر پروتیینی، مقدار نیتروژن آمونیاکی تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (P>0/05) ولی مقدار آن نسبت به جیره شاهد بالاتر بود. استفاده از اوره آهسته رهش در مقایسه با اوره معمولی در کاهش نیتروژن آمونیاکی شکمبه در ساعت 3 بعد از خوراک دهی، موثر نبود (P=0/072). pH شکمبه درجیره شاهد نسبت به جیره‌های حاوی منابع منابع نیتروژن غیر پروتیینی، پایین‌تر بود (P=0/005). افزودن ملاس، کاهش در مقدار نیتروژن آمونیاکی (P=0/046) و pH شکمبه (P<0/001) را به دنبال داشت. مقدار گلوکز خون در جیره شاهد نسبت به جیره‌های حاوی منابع نیتروژن غیر پروتیینی بالاتر بود (P=0/028). هم راستا با افزایش نیتروژن آمونیاکی شکمبه، نیتروژن اوره‌ای خون در جیره‌های حاوی اوره معمولی نسبت به جیره شاهد افزایش یافت (22/4 در مقابل 18/6 میلی گرم در دسی لیتر) (P<0/05). در جیره‌های حاوی اوره معمولی، همراه شدن ملاس با اوره، باعث کاهش نیتروژن اوره‌ای خون شد (P<0/05).

هم راستا با نتایج آزمایش حاضر یافته‌های لیزارازو و همکاران (32) نشان داد که اوره آهسته رهش نسبت به اوره معمولی pH و نیتروژن آمونیاکی شکمبه را در ساعت سه پس از خوراک دادن

کاهش داد. همچنین استفاده از ملاس باعث کاهش pH شکمبه در ساعت سه پس از خوراک دادن شد. در همین ارتباط، یافته‌های آلمورا و همکاران (2) نشان داد که گوساله‌های مصرف کننده اُپتی‌ژن نسبت به اوره، pH محتویات شکمبه پایین‌تری داشته ولی نیتروژن اوره‌ای خون تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. در مقابل، نتایج بررسی اثرات افزودن توام اُپتی‌ژن و بنتونیت سدیم، توسط چگنی و همکاران (18) نشان داد که pH تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفته ولی نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه، در جیره‌های حاوی 1/8 درصد اُپتی‌ژن، افزایش یافت (P<0/05). بر خلاف نتایج آزمایش حاضر، یافته‌های هانتینگتون و همکاران (28) نشان داد که اوره معمولی نسبت به اوره کلسیمی، باعث افزایش غلظت گلوکز خون می‌شود. نتایج همین محقق نشان داد که اوره کلسیمی باعث کُند آزاد شدن نیتروژن آمونیاکی و کاهش جذب شکمبه‌ای آن در گوساله‌ها می‌شود. اوره کلسیمی در کاهش آزاد سازی سریع آمونیاک در شکمبه موثر بود.

در آزمایش حاضر، pH شکمبه پایین‌تر درجیره شاهد نسبت به جیره‌های حاوی منابع نیتروژن غیر پروتیینی (P<0/001) (جدول 4) با توجه به این واقعیت که دانه ذرت نسبت به کنجاله سویا محتوای انرژی بالاتری داشته و تخمیر شکمبه‌ای سریع‌تری دارد (جدول 1)، می‌تواند توجیه شود (11) همچنین افزایش غلظت آمونیاک شکمبه، ناشی از آبکافت اوره، می‌تواند از طریق گرفتن H^+ توسط آمونیاک و تبدیل آن به NH_4^+ باعث افزایش pH شکمبه شود (30).

pH شکمبه در جیره‌های حاوی اوره آهسته رهش به همراه ملاس، نسبت به جیره بدون ملاس، کاهش یافت (6/08 در مقابل 6/84) (جدول 3). کاهش ترشح بزاق در حیوان، ناشی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی ملاس و مقدار زیاد قندهای قابل تخمیر ناشی از ملاس در شکمبه احتمالاً می‌تواند دلیل کاهش pH محتویات شکمبه باشد (10). در مقابل آرابا و همکاران (6) اظهارداشتند که pH شکمبه در اثر افزودن سطوح مختلف ملاس جایگزین شده با دانه جو در جیره گاوهای گوشتی افزایش یافت. این افزایش احتمالاً به دلیل وجود مقادیر بالاتر کاتیون‌ها (عمدتاً K^+، Ca^{2+} و Mg^{2+}) در ملاس بوده که باعث افزایش ظرفیت بافری شکمبه در جیره‌های حاوی ملاس شده است. در آزمایش انجام شده توسط بورهو و مصطفی (9) افزودن ملاس خشک به جیره‌ی گاوهای شیرده تاثیری روی pH شکمبه وغلظت نیتروژن آمونیاکی نداشت. در تحقیق بعمل آمده توسط بریتو و همکاران (15) استفاده از ملاس مایع در جیره گاوهای شیرده کاهش معنی‌دار نیتروژن اوره‌ای خون، و افزایش نسبت مولار بوتیرات و pH مایع شکمبه را در پی داشت.

در آزمایش حاضر pH شکمبه در تیمارهای مختلف بین 6/84 تا 5/89 (جدول 4) و در محدوده pH مطلوب برای فعالیت بهینه محیط شکمبه (5/5 تا 7/0) بود (11). تامین مقدار کافی مکمل نیتروژن در شکمبه برای جلوگیری از کمبود نیتروژن مورد نیاز باکتری‌های هضم کننده فیبر، بویژه اگر باکتری‌های در حال رشد روی منابع کربوهیدرات‌های غیر فیبری، بطور سریع نیتروژن در دسترس را مورد بهره برداری قرار داده باشند، ضروری است. در صورت عدم محدودیت نیتروژن و عدم وجود تغییرات شدید در pH مکمل قند اثر اندکی روی تخمیر پذیری دیواره سلولی دارد (25).

در آزمایش حاضر، در جیره‌های حاوی منابع نیتروژن غیر پروتیینی نسبت به جیره شاهد، مقدار نیتروژن آمونیاکی و نیتروژن اوره‌ای خون بالاتری مشاهده شد (جدول 4). یافته‌های آزمایش حاضر با نتایج نیتروژن آمونیاکی بدست آمده در ساعت 3 بعد از خوراک دادن توسط لیزارازو و همکاران (32) هم خوانی دارد. چگنی و همکاران (18) در نتایج آزمایش خود دریافتند که مقدار نیتروژن آمونیاکی در جیره‌های حاوی اوره آهسته رهش نسبت به جیره شاهد بالاتر بود و بیشینه‌ی آن 45 میلی گرم در دسی لیتر در 3 ساعت پس از خوراک‌دهی بدست آمد. بلاسکو (12) گزارش کرد که غلظت آمونیاک شکمبه تجزیه فیبر را تحت تاثیر قرار داده و بیشینه‌ی هضم سلولز وقتی حاصل می‌شود که غلظت آمونیاک شکمبه 43 میلی گرم در دسی لیتر باشد. چردتونگ و همکاران (19) در گاوهای شیرده تغذیه شده با کاه برنج بصورت آزاد به عنوان تنها منبع علوفه‌ای، از اوره آهسته رهش (اوره کلسیمی) در مقایسه با اوره معمولی به همراه کنسانتره استفاده کردند. اوره آهسته رهش سطح آمونیاک شکمبه را در محدوده 15/7 تا 16/3 میلی گرم در دسی لیتر حفظ کرد و بیشینه‌ی غلظت آمونیاک شکمبه در ساعت 4 پس از خوراک دهی بود. با این وجود ون سوست (54) اظهار داشت که برای هر جیره یک غلظت آمونیاک بهینه‌ای وجود دارد چرا که ظرفیت ساخت پروتیین و استفاده از آمونیاک وابسته به سرعت تخمیر کربوهیدرات‌ها است. با توجه به این این سازو کار، اختلاف در مقدار، ترکیبات و نوع علوفه جیره‌های آزمایشی می‌تواند تفاوت در مقدار نیتروژن آمونیاکی را توجیه کند.

همبستگی زیادی بین غلظت نیتروژن اوره‌ای خون و تولید آمونیاک در شکمبه وجود دارد. همچنین غلظت نیتروژن اوره‌ای خون می‌تواند منعکس کننده‌ی اتلاف نیتروژن حاصل از تخمیر در شکمبه باشد (58). بعلاوه غلظت نیتروژن اوره‌ای خون با مقدار کربوهیدرات های غیر فیبری جیره، به دلیل اینکه به سرعت انرژی مورد نیاز برای استفاده میکروارگانیزم‌های شکمبه را فراهم می‌کنند، مرتبط است. بر اساس یافته‌های والادرس و همکاران (53) وقتیکه مقدار کربوهیدرات‌های غیر فیبری جیره کمتر از 35 درصد باشد، به دلیل افزایش در جذب نیتروژن آمونیاکی از جدار شکمبه و بالا رفتن غلظت نیتروژن اوره‌ای خون، بهره‌وری استفاده از نیتروژن آمونیاکی کاهش می‌یابد. در آزمایش حاضر در تمام تیمارها، مقدار کربوهیدرات‌های غیر فیبری جیره‌ها بالاتر از 35 درصد بود و ساز و کار گفته شده نمی‌تواند

با این یافته‌ها منطبق باشد. بیشینه‌ی غلظت نیتروژن اوره‌ای پلاسما در آزمایش آلوز و همکاران (3) در جیره‌های حاوی اوره آهسته رهش و با نسبت 50 درصد علوفه، 23/2 میلی گرم در دسی لیتر، در ساعت 4 پس از خوراک دهی بدست آمد. در گاوهای گوشتی محدوده‌ی مطلوب نیتروژن اوره‌ای خون برای دست یابی به بیشینه‌ی بهره‌وری میکروبی 13/5 تا 15/2 میلی گرم در دسی لیتر گزارش شده است (53). اگر آبکافت اوره آهسته رهش سریع‌تر از زمانی که پیش بینی شده است انجام پذیرد، تجمع آمونیاک در شکمبه هنگامی رُخ می‌دهد که انرژی برای میکروارگانیزم‌های شکمبه فراهم نیست، در نتیجه آمونیاک از دیواره شکمبه به خون وارد شده و در نهایت بصورت اوره دفع می‌شود (23). در آزمایش حاضر، مقادیر نیتروژن اوره‌ای خون جیره‌های حاوی اوره معمولی نسبت به اوره آهسته رهش، تفاوت معنی‌داری نداشتند (P=0/386). این یافته‌ها نشان می‌دهند که آبکافت اوره آهسته رهش سریع‌تر از زمانی که پیش بینی شده است انجام پذیرفته و در عمل با زمان هیدرولیز اوره معمولی تفاوتی نداشته و بالطبع انعکاس آن در نیتروژن اوره‌ای خون نیز یکسان بوده است.

خصوصیات کمی و کیفی لاشه

صفات مورد مطالعه روی لاشه بره‌های تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی در جدول 5 نشان داده شده است. استفاده از اوره آهسته رهش در مقایسه با اوره معمولی و نیز افزودن ملاس به جیره های آزمایشی شاخص‌های مورد مطالعه لاشه را تحت تاثیر قرار نداد (P>0/05). همچنین روند مشابهی در بررسی مقایسات گروهی تیمارها مشاهده شد (P>0/05). جیره‌های آزمایشی اثری بر مقادیر وزن زنده زمان کشتار، وزن زنده شکم خالی و وزن لاشه گرم و سرد نداشتند (P>0/05). وزن زنده زمان کشتار و وزن زنده شکم خالی تحت تاثیر جایگزینی اوره آهسته رهش با اوره معمولی و نیز افزودن ملاس در جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت (P>0/05) (جدول 5). مطالعات اندکی در خصوص اثر اوره آهسته رهش بر خصوصیات لاشه دام‌های پرواری انجام شده است (14). در مطالعه نسبت‌های مختلف جایگزینی اوره آهسته رهش با اوره معمولی، انجام شده توسط آلوز و همکاران (4) وزن زمان کشتار و وزن زنده شکم خالی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. همبستگی زیادی بین وزن زنده قبل از کشتار و وزن زنده شکم خالی وجود دارد و هماهنگی بین نتایج اثرات جیره‌های آزمایشی بر وزن زنده قبل از کشتار و وزن زنده شکم خالی نشان دهنده‌ی یکسان بودن مقادیر محتویات دستگاه گوارش حیوانات بدون توجه به جیره‌های غذایی دریافتی است. در آزمایش آلوز و همکاران (4) میانگین وزن لاشه گرم و سرد در کل تیمارها به ترتیب 16/7 و 13/8 کیلوگرم بدست آمد (P>0/05). در آزمایش حاضر میانگین وزن لاشه گرم و سرد کل تیمارها به ترتیب 15/6 و 15/0 کیلوگرم و نزدیک به نتایج آزمایش یاد شده بود. احتمالاً وزن نزدیک حیوانات در زمان کشتار، به یکنواختی و عدم تنوع در مقادیر وزن لاشه گرم و سرد کمک کرده است (4).

راندمان لاشه گوسفند تحت تاثیر افزودن سطوح ملاس 10 و 20 درصد، جایگزین دانه ذرت جیره، در مقایسه با جیره های بدون ملاس قرار نگرفت، ولی سطوح بالاتر از 20 درصد ملاس باعث کاهش راندمان لاشه شد (52). در مقابل، استفاده از 47 درصد ملاس، جایگزین دانه ذرت در کنسانتره گوساله های پرواری، باعث افزایش وزن لاشه گرم و وزن زنده شکم خالی در مقایسه با جیره‌های بدون ملاس شد ولی ضخامت چربی زیر جلدی و راندمان لاشه تحت تاثیر قرار نگرفت (7). احتمالاً تفاوت در نوع، مقدار و ارزش غذایی علوفه مصرفی، منجر به اختلاف در عکس العمل ناشی از افزودن ملاس به جیره حیوانات در حال رشد شده است (42).

یافته‌های حاصل از بررسی اثر سطوح مختلف اوره آهسته رهش و اوره معمولی در گوساله‌های پرواری تغذیه شده با دانه ذرت عمل آوری شده با بخار آب توسط بورگ و همکاران (14) نشان داد که وزن لاشه گرم، راندمان لاشه، ضخامت چربی زیر جلدی و سطح مقطع راسته تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفت. در همین ارتباط، استفاده از اوره آهسته رهش، برای تامین 100 درصد نیاز نیتروژن شکمبه گوساله‌های پرواری، تاثیری بر مقدار وزن لاشه گرم، راندمان لاشه، ضخامت چربی زیر جلدی و سطح مقطع راسته نداشت (51).

در آزمایش حاضر، راندمان لاشه سرد، طول لاشه، عمق لاشه و سطح مقطع راسته، به ترتیب با میانگین‌های47/2 درصد، 69 سانتی‌متر، 28/8 سانتی‌متر و 14/9 سانتی‌متر مربع، تحت تاثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفتند (جدول 5). در همین راستا مطالعات (14) در استفاده از سطوح مختلف اوره آهسته رهش (اُپتی ژن) جایگزین اوره معمولی، نشان داد که وزن لاشه گرم، راندمان لاشه، سطح مقطع راسته، ماربلینگ و درجه کیفی گوشت گوساله‌های پرواری تحت تاثیر جیره های آزمایشی قرار نگرفت. این نتایج با عنایت به وزن‌های کشتار و لاشه مشابه، می‌تواند توجیه شود. مشابهت در سطوح انرژی و مصرف مواد مغذی ممکن است با عدم تنوع در مقادیر سطح مقطع راسته مرتبط باشد (4).

ضخامت چربی زیر جلدی تحت تاثیر تیمارها قرارنگرفت (P>0/05) و میانگین آنها 5/7 میلی‌متر بود. در همین ارتباط یافته‌های بورگ و همکاران (14) نشان داد که استفاده از سطوح مختلف اوره آهسته رهش، ضخامت چربی زیر جلدی گوساله‌های پرواری را تحت تاثیر قرار نداده است. ضخامت چربی زیر جلدی بطور مستقیم با درصد چربی لاشه و وزن لاشه سرد و کیفیت لاشه ارتباط دارد، زیرا چربی زیر جلدی بصورت یک پوشش برای لاشه عمل کرده، اُفت لاشه را در طی مدت زمان سرد کردن کاهش و به حفظ کیفیت آن کمک می‌کند (4). عدم وجود اختلاف معنی‌دار (P>0/05)

بین تیمارها، از نظر میانگین وزن گردن، سردست، قلوه‌گاه و راسته، در آزمایش حاضر (جدول 5)، می‌تواند ناشی از یکسان بودن وزن کشتار دام‌ها باشد (4).

افزودن اوره آهسته رهش در مقایسه با اوره معمولی و نیز افزودن ملاس به جیره‌های آزمایشی تغییری در فراسنجه‌های رنگ گوشت شامل L یا گرایش به روشنایی، a یاگرایش به قرمزی، b یاگرایش به زردی، c یا اشباع شدگی رنگ و H یا زاویه هیو لاشه ایجاد نکرد. همین روند در بررسی مقایسات گروهی تیمارها نیز مشاهده شد (P>0/05) (جدول 6). در همین راستا یافته‌های آلوز و همکاران (4) نشان داد که درجه ماربلینگ و رنگ گوشت در گوسفند تحت تاثیر سطوح مختلف جایگزینی اوره آهسته رهش با اوره معمولی قرار نگرفت (P>0/05).

جدول 5- اثر جیره‌های آزمایشی بر اجزای لاشه بره‌ها

Table 5- Effect of experimental diets on carcass composition lambs

مورد Item	جیره‌های آزمایشی[1] Experimental diets[1]					SEM[2]	Contrasts[3]				
	CT	UM0	UM20	SM0	SM20		C1	C2	C3	C4	C5
وزن زنده (کیلوگرم) Live weight (kg)	32.5	33.1	33.5	32.7	32.9	0.70	0.866	0.823	0.716	0.950	0.806
وزن زنده شکم خالی (کیلوگرم) Empty body weight (kg)	28.0	28.8	29.1	28.9	28.8	0.65	0.445	0.059	0.058	0.142	0.905
وزن لاشه گرم (کیلوگرم) Hot carcass weight (kg)	15.7	15.4	15.4	15.8	15.6	0.44	0.525	0.888	0.433	0.600	0.524
وزن لاشه سرد (کیلوگرم) Cold carcass weight (kg)	15.1	14.8	14.9	15.3	15.0	0.45	0.293	0.831	0.545	0.380	0.296
راندمان لاشه سرد Cold carcass efficiency	46.6	46.7	47.2	48.2	47.1	0.49	0.209	0.578	0.944	0.174	0.352
طول لاشه (سانتی‌متر) Carcass length (cm)	68.3	68.9	70.7	68.3	68.5	0.50	0.478	0.364	0.201	0.786	0.312
عمق لاشه (سانتی‌متر) Carcass depth (cm)	29.3	28.7	29.0	27.9	29.0	0.29	0.085	0.987	0.588	0.114	0.112
سطح مقطع لاشه (سانتی‌متر مربع) Loin eye area (cm^2)	17.2	14.3	12.7	14.9	15.5	0.93	0.976	0.407	0.168	0.709	0.750
ضخامت چربی زیر جلدی (میلی‌متر) Subcutaneous fat (mm)	5.38	6.07	4.11	5.36	7.77	0.60	0.756	0.873	0.289	0.828	0.728
گردن (کیلوگرم) Neck (kg)	0.65	0.58	0.57	0.58	0.65	0.02	0.536	0.929	0.072	0.548	0.597
سردست (کیلوگرم) Shoulder (kg)	1.16	1.15	1.17	1.18	1.17	0.03	0.639	0.744	0.984	0.575	0.769
سرسینه و دنده ها (کیلوگرم) Breast and ribs (kg)	1.27	1.27	1.22	1.36	1.33	0.04	0.111	0.972	0.282	0.147	0.140
راسته (کیلوگرم) Loin (kg)	1.42	1.34	1.39	1.39	1.40	0.04	0.999	0.835	0.470	0.932	0.931
ران (کیلوگرم) Leg (kg)	2.10	2.06	2.13	2.14	2.22	0.06	0.851	0.160	0.322	0.445	0.669
دنبه (کیلوگرم) Fat tail (kg)	2.23	2.47	2.06	2.17	1.99	0.19	0.956	0.383	0.677	0.678	0.754

[1] CT - کنترل، UM0 - اوره معمولی بدون ملاس، UM20 - اوره معمولی با ملاس 20 درصد، SM0 - اوره آهسته رهش بدون ملاس، SM20 - اوره آهسته رهش با ملاس 20 درصد،

[2] SEM: میانگین خطای معیار

[3] مقایسات: C1- مقایسه جیره کنترل با جیره حاوی منابع نیتروژن غیر پروتیینی، C2- مقایسه جیره اوره معمولی با جیره اوره آهسته رهش، C3- مقایسه جیره با ملاس با جیره بدون ملاس، C4- مقایسه جیره کنترل با جیره اوره آهسته رهش، C5- مقایسه جیره کنترل با جیره اوره معمولی.

[1] CT-Control, UM0- Urea Without Molasses, UM20- Urea With 20% Molasses, SM0- Slow Release Urea Without Molasses, SM20- Slow Release Urea With20% Molasses. SEM-standard error of the means.

[3] Contrasts: C1- (CT vs UM0, UM20, SM0, SM20), C2- (UM0, UM20 vs SM0, SM20), C3- (UM0, SM0 vs UM20, SM20), C4- (CT vs SM0, SM20), C5- (CT vs UM0, UM20).

جدول 6- اثر جیره‌های آزمایشی بر فراسنجه‌های رنگ و pH گوشت بره‌ها

Table 6- Effect of experimental diets on meat colour and pH variables of lambs

مورد Item	جیره‌های آزمایشی Experimental diets[1]					SEM[2]	Contrast[3]				
	CT	UM0	UM20	SM0	SM20		C1	C2	C3	C4	C5
pH	6.1	6.2	6.1	5.9	6.2	0.07	0.257	0.848	0.981	0.266	0.336
L[4]	41.6	42.0	41.8	43.4	42.4	0.67	0.432	0.844	0.940	0.426	0.522
a[4]	18.6	18.0	19.5	18.6	17.7	0.50	0.920	0.806	0.633	0.848	0.993
b[4]	5.4	5.3	6.2	6.1	5.4	0.25	0.493	0.426	0.539	0.344	0.763
c[4]	19.4	18.9	20.4	19.6	18.6	0.51	0.848	0.783	0.578	0.774	0.951
H[4]	15.9	16.6	17.9	17.9	17.0	0.66	0.579	0.462	0.620	0.421	0.840

[1] CT - کنترل، UM0 - اوره معمولی بدون ملاس، UM20 - اوره معمولی با ملاس 20 درصد، SM0 - اوره آهسته رهش بدون ملاس، SM20 - اوره آهسته رهش با ملاس 20 درصد،

[۲] SEM: میانگین خطای معیار

[3] مقایسات: C1- مقایسه جیره کنترل با جیره حاوی منابع نیتروژن غیر پروتیینی، C2- مقایسه جیره اوره معمولی با جیره اوره آهسته رهش، C3- مقایسه جیره با ملاس با جیره بدون ملاس، C4- مقایسه جیره کنترل با جیره اوره آهسته رهش، C5- مقایسه جیره کنترل با جیره اوره معمولی

[4] شامل L- گرایش به روشنایی،a ، گرایش به قرمزی، b- گرایش به زردی، c–اشباع شدگی رنگ و H–زاویه هیو می‌باشند.

[1]CT-Control, UM0- Urea Without Molasses, UM20- Urea With 20% Molasses, SM0- Slow Release Urea Without Molasses, SM20- Slow Release Urea With20% Molasses. SEM-standard error of the means.

[3] Contrasts: C1- (CT vs UM0, UM20, SM0, SM20), C2- (UM0, UM20 vs SM0, SM20), C3- (UM0, SM0 vs UM20, SM20), C4- (CT vs SM0, SM20), C5- (CT vs UM0, UM20).

[4] Included L= Lightness, a= Intensity of red colour, b= Intensity of yellow colour, c= Colour saturation $(a^2+b^2)^{1/2}$ and H= Colour tone of the meat Arctag(a/b)

در آزمایش حاضر میانگین pH گوشت 6/1 بود و تحت تاثیر جیره‌های آزمایشی در تیمارهای مختلف قرار نگرفت (جدول 6). بعد از کشتار به دلیل تولید اسید لاکتیک در عضلات، pH گوشت کاهش می‌یابد. روند کاهش pH بر کیفیت گوشت اثر 'گذار بوده و در صورتی که دام از نظر ذخائر انرژی قابل سوخت و ساز در شرایط بی‌هوازی دچار کمبود باشد pH گوشت پایین می‌آید (44). بر اساس یافته‌های بوگالمی و همکاران (13) مقادیر pH طبیعی گوشت بین 5/5 تا 5/8 می‌باشد. ولی در آزمایش حاضر میانگین مقدار pH گوشت بالاتر (6/1) بود. دمای محیط، از جمله عواملی است که، می‌تواند بر pH گوشت اثر گذار باشد. در آزمایش بوگالمی و همکاران (13) مقدارpH گوشت در میانگین دمای بالاتر از 38 درجه سانتی گراد افزایش یافت (6/02). احتمالاً افزایش pH گوشت در آزمایش حاضر، به دلیل گرمای محیط هنگام کشتار بوده است.

در آزمایش روزانسکی و همکاران (43) بالاترین (5/7) و پایین‌ترین (5/5) pH گوشت به ترتیب در جیره‌های با 1/5 و 0/5 درصد اوره بدست آمد. گلوکونئوژنز و چرخه اوره برای سوخت و ساز حیوانات نشخوار کننده، حیاتی هستند. با این حال آمونیاک با کاهش تبدیل پروپیونات به گلوکز، باعث کاهش گلوکونئوژنز می‌شود. ساز و کار این اثر آمونیاک کاملاً شناخته شده نیست، ولی اثرات قابل توجهی در رقابت بر سر انرژی مورد نیاز برای ساخت گلوکز و یا اوره، ناشی از وجود آمونیاک، مشخص شده است (36). پایین آمدن ذخیره گلیکوژن در عضلات سبب کاهش سطح گلوکز در عضلات شده که این امر موجب کاهش تولید اسید لاکتیک از طریق مسیر غیر هوازی شده و در نتیجه کاهش مورد انتظار در مقدار pH اندک خواهد بود. احتمالاً گوشت تیره‌تر در بره‌های تغذیه شده با 1/5 درصد اوره در آزمایش ذکر شده با غلظت بالاتر آمونیاک در عضلات مرتبط باشد که در مسیر گلوکونئوژنز مداخله کرده و کاهش دسترسی به گلوکز و تشکیل و ذخیره گلیکوژن در عضلات را موجب شده است (45). در آزمایش حاضر نزدیک بودن جیره‌های غذایی از نظر مواد مغذی و مشابهت از نظر وزن لاشه و سایر صفات لاشه، می‌تواند توجیه کننده عدم وجود تفاوت در صفات رنگ و pH گوشت تیمارهای مختلف باشد.

نتیجه گیری

در مقایسه با اوره معمولی، استفاده ازمنبع اوره آهسته رهش با یا بدون ملاس، در جیره غذایی بره‌های پرواری، ماده خشک مصرفی روزانه، افزایش وزن روزانه، ضریب تبدیل خوراک و وزن نهایی پروار، خصوصیات کمی و کیفی لاشه، قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی، دیواره سلولی، دیواره سلولی بدون همی سلولز و چربی خام را تغییر نداد. جایگزینی اوره آهسته رهش با اوره معمولی نتوانست نیتروژن آمونیاکی شکمبه را در ساعات اولیه پس از خوراک دادن کاهش دهد. با توجه به کاهش مقدار نیتروژن آمونیاکی شکمبه در جیره‌های حاوی ملاس نسبت به بدون ملاس و نیز افزایش غلظت بوتیرات و کل اسیدهای چرب فرار ناشی از همراه شدن آن در جیره، به نظر می‌رسد که افزودن ملاس در حفظ شرایط بهینه شکمبه نقش مثبتی داشته است. مطالعات بیشتری برای بررسی اثر اوره آهسته رهش بر عملکرد

حیوان لازم است.

منابع

1- Ahmed, M. H, and S. A. Babiker. 2015. Effect of feeding urea-treated sugar-cane bagasse on properties and quality of fresh meat of Sudan Baggara Zebu bulls. International Journal of Animal Biology, 1:45-49.
2- Almora, E. A., G. B. Huntington, and J. C. Burns. 2012. Effects of supplemental urea sources and feeding frequency on ruminal fermentation, fiber digestion, and nitrogen balance in beef steers. Animal Feed Science and Technology, 171: 136-145.
3- Alves, E. M., D. R. Magalhaes, M. A. Freitas, E. D. J. D. Santos, M. L. A. Pereira, and M. D. S. Pedreira. 2014. Nitrogen metabolism and microbial synthesis in sheep fed diets containing slow release urea to replace the conventional urea. Acta Scientiarum Animal Sciences, 36: 55-62.
4- Alves, E. M., M. D. S. Pedreira, B. S. Moreira, L. D. R. Freire, T. R. Lima, and C. L. D. Santos-Cruz. 2014. Carcass characteristics of sheep fed diets with slow-release urea replacing conventional urea. Acta Scientiarum Animal Sciences, 36: 303-310.
5- Apple, J. K., J. B. Machete, R. J. Stackhouse, T. M. Johnson, C. A. Keys, and J. W. Yancey. 2014. Color stability and tenderness variations within the gluteus medius from beef top sirloin butts. Meat science, 96: 56-64.
6- Araba, A., F. M. Byers, and F. Guessous. 2002. Patterns of rumen fermentation in bulls fed barley/molasses diets. Animal Feed Science and Technology, 97: 53–64.
7- Asimwe, L., A. E. Kimambo, G. H. Laswai, L. A. Mtenga, M. R. Weisbjerg, J. Madsen, and D. E. Mushi. 2015. Growth performance and carcass characteristics of Tanzania Shorthorn Zebu cattle finished on molasses or maize grain with rice or maize by-products. Livestock Science, 182: 112-117.
8- Atkinson, R. L., C. D. Toone, T. J. Robinson, D. L. Harmon, and P. A. Ludden. 2007. Effects of supplemental ruminally degradable protein versus increasing amounts of supplemental ruminally undegradable protein on nitrogen retention, apparent digestibility, and nutrient flux across visceral tissues in lambs fed low-quality forage. Journal of animal science, 85: 3331-3339.
9- Baurhoo, B, and A. Mustafa. 2014. Effects of molasses supplementation on performance of lactating cows fed high-alfalfa silage diets. Journal of Dairy Science, 97: 1072-1076.
10- Benavides, M. C, and J. Rodriguez. 1971. Salivary secretion and its contribution to ruminal fluid flow in animals fed on liquid molasses/based diets. Rev. Revista Cubana de Ciencia Agricola, 5: 31-40.
11- Benedeti, P. D. B., P. V. R. Paulino, M. I. Marcondes, S. C. Valadares Filho, T. S. Martins, E. F. Lisboa, L. H. P. Silva, C. R. V. Teixeria, and M. S. Duarte. 2014. Soybean meal replaced by slow release urea in finishing diets for beef cattle. Livestock Science, 165: 51-60.
12- Belasco, I. J, 1954. Comparison of urea and protein meals as nitrogen sources for rumen micro-organisms: urea utilization and cellulose digestion. Journal of Animal Science, 13: 739-747.
13- Boughalmi, A, and A. Araba. 2016. Effect of feeding management from grass to concentrate feed on growth, carcass characteristics, meat quality and fatty acid profile of Timahdite lamb breed. Small Ruminant Research, 144: 158-163.
14- Bourg, B. M., L. O. Tedeschi, T. A. Wickersham, and J. M. Tricarico. 2012. Effects of a slow release urea product on performance, carcass characteristics, and nitrogen balance of steers fed steam-flaked corn. Journal of Animal Science, 90: 3914-3923.
15- Brito, A. F., H. V. Petit, A. B. D. Pereira, K. J. Soder, and S. Ross. 2015. Interactions of corn meal or molasses with a soybean-sunflower meal mix or flaxseed meal on production, milk fatty acid composition, and nutrient utilization in dairy cows fed grass hay-based diets. Journal of Dairy Science, 98: 443-457.
16- Broderick, G. A, and J. H. Kang. 1980. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and in vitro media. Journal of Dairy Science, 63: 64-75.
17- Burroughs, W., D.K. Nelson, and D. R. Mertens, 1975. Evaluation of Protein Nutrition by Metabolizable Protein and Urea Fermentation Potential. Journal of dairy science, 58: 611-619.
18- Calomeni, G. D., R. Gardinal, B. C. Venturelli, J. E. D. Freitas Junior, T. H. A. Vendramini, C. S. Takiya. and F. P. Renno. 2015. Effects of polymer-coated slow-release urea on performance, ruminal fermentation, and blood metabolites in dairy cows. Revista Brasileira de Zootecnia, 44: 327-334.
19- Chegeni, A., Y. L. Li, K. D. Deng, C. G. Jiang, and Q. Y. Diao. 2013. Effect of dietary polymer-coated urea and sodium bentonite on digestibility, rumen fermentation, and microbial protein yield in sheep fed high levels of corn stalk. Livestock Science, 157: 141-150.
20- Cherdthong, A., M. Wanapat, and C. Wachirapakorn. 2011. Effects of urea–calcium mixture in concentrate containing high cassava chip on feed intake, rumen fermentation and performance of lactating dairy cows fed on rice straw. Livestock Science, 136: 76-84.
21- DeFrain, J. M., A. R. Hippen, K. F. Kalscheur, and D. J. Schingoethe, 2006. Feeding lactose to increase ruminal

butyrate and the metabolic status of transition dairy cows. Journal of Dairy Science, 89: 267-276.
22- Dumont, B. L, 1981. Beef quality, marketing and the consumers. Current Topics in Veterinary Medicine and Animal Science, 10: 37-57.
23- Firkins, J. L., B. S. Oldick, J. Pantoja, C. Reveneau, L. E. Gilligan, and L. Carver. 2008. Efficacy of liquid feeds varying in concentration and composition of fat, nonprotein nitrogen, and nonfiber carbohydrates for lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 91: 1969-1984.
24- Galo, E., S. M. Emanuele, C. J. Sniffen, J. H.White, and J. R. Knapp. 2003. Effects of a polymer-coated urea product on nitrogen metabolism in lactating Holstein dairy cattle. Journal of Dairy Science, 86: 2154-2162.
25- Golombeski, G. L., K. F. Kalscheur, A. R. Hippen, and D. J. Schingoethe. 2006. Slow-release urea and highly fermentable sugars in diets fed to lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 89: 4395-4403.
26- Hall, M. B. 2002. Working with sugars (and molasses). Page 146-158 in Proc. 13th Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium, Gainesville, FL, USA.
27- Highstreet, A., P. H. Robinson, J. Robison, and J. G. Garrett. 2010. Response of Holstein cows to replacing urea with with a slowly rumen released urea in a diet high in soluble crude protein. Livestock Science, 129: 179-185.
28- Hristov, A. N, and J. K. Ropp. 2003. Effect of dietary carbohydrate composition and availability on utilization of ruminal ammonia nitrogen for milk protein synthesis in dairy cows. Journal of Dairy Science, 86: 2416-2427.
29- Huntington, G. B., D. L. Harmon, N. B. Kristensen, K. C. Hanson, and J. W. Spears. 2006. Effects of a slow-release urea source on absorption of ammonia and endogenous production of urea by cattle. Animal Feed Science and Technology, 130: 225-241.
30- Inostroza, J. F., R. D. Shaver, V. E. Cabrera, and Tricarico. 2010. Effect of diets containing a controlled-release urea product on milk yield, milk composition, and milk component yields in commercial Wisconsin dairy herds and economic implications. The Professional Animal Scientist, 26: 175-180.
31- Kertz, A. F., L. E. Davidson, B. R. Cords, and H. C. Puch. 1983. Ruminal infusion of ammonium chloride in lactating cows to determine effect of pH on ammonia trapping. Journal Of Dairy Science, 66: 2597-2601.
32- Khampa, S., M. Wanapat, C. Wachirapakorn, N. Nontaso, and M. Wattiaux. 2006. Effects of urea level and sodium DL-malate in concentrate containing high cassava chip on ruminal fermentation efficiency, microbial protein synthesis in lactating dairy cows raised under tropical condition. Asian Australian Journal of Animal Science, 19: 837-849.
33- Lizarazo, A. C., G. D. Mendoza, J. Ku, L. M. Melgoza, and M. Crosby. 2014. Effects of slow-release urea and molasses on ruminal metabolism of lambs fed with low-quality tropical forage. Small Ruminant Research, 116: 28-31.
34- Luciano, G., F. J. Monahan, V. Vasta, L. Biondi, M. Lanza, and A. Priolo. 2009. Dietary tannins improve lamb meat colour stability. Meat science, 81: 120-125.
35- Martel, C. A., E. C. Titgemeyer, L. K. Mamedova, and B. J. Bradford. 2011. Dietary molasses increases ruminal pH and enhances ruminal biohydrogenation during milk fat depression. Journal of Dairy Science, 94: 3995-4004.
36- Mendoza, G. D., R. A. Britton, and R. A. Stock. 1993. Influence of ruminal protozoa on site and extent of starch digestion and ruminal fermentation. Journal Of Animal Science, 71: 1572-1578.
37- Noro, M., R. Bertinat, A. Yanez, J. C. Slebe, and F. Wittwer. 2012. Non-protein nitrogen supplementation increases gluconeogenic capacity in sheep. Livestock Science, 148: 243-248.
38- National Research Council. 2000. Nutrient Requirements of Beef Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
39- Oelker, E. R., C. Reveneau, and J. L. Firkins. 2009. Interaction of molasses and monensin in alfalfa hay-or corn silage-based diets on rumen fermentation, total tract digestibility, and milk production by Holstein cows. Journal of Dairy Science, 92: 270-285.
40- Oldham J. D, 1984. Protein-energy interrelationships in dairy cows. Journal of Dairy Science, 67: 1090-1114.
41- Ortiz, R. M. A., M. A. Galina, and M. M. A. Carmona. 2002. Effect of a slow non-protein nitrogen ruminal supplementation on improvement of Cynodonnlemfuensis or Brachiariabrizanta utilization by Zebu steers. Livestock Production Science, 78: 125-131.
42- Ottenstein, D. M., and D. A. Bartley. 1971. Improved gas chromatography separation of free acids C2-C5 in dilute solution. Analytical Chemistry, 43: 952-955.
43- Pate, F. M, 1983. Molasses in beef nutrition. In 'Molasses in animal nutrition'. pp. 2–56. National Feed Ingredients Association: Des Moines, IA.
44- Pinos-Rodriguez, J. M., L. Y. Pena, S. S. Gonzalez-Munoz, R. Barcena, and A. Salem. 2010. Effects of a slow-release coated urea product on growth performance and ruminal fermentation in beef steers. Italian Journal of Animal Science, 9: 4-16.
45- Ramirez-Retamal, J., and R. Morales. 2014. Influence of breed and feeding on the main quality characteristics of sheep carcass and meat: A review. Chilean journal of agricultural research, 74: 225-233.
46- Rozanski, S., D. R. Vivian, L. H. Kowalski, O. Rogerio Prado, S. R. Fernandes, J. C. de Souza, and J. A. de Freitas. 2017. Carcass and meat traits, and non-carcass components of lambs fed ration containing increasing

levels of urea. Semina: Ciencias Agrarias, 38:1577-1593.
47- SAS, 2003. SAS User's Guide: Statistics, Version 9.1 Edition. SAS Institute, Cary, NC, USA.
48- Satter, L. D, and R. E. Roffler. 1975. Nitrogen requirement and utilization in dairy cattle. Journal of Dairy Science, 58: 1219-1237.
49- Sinclair, L. A., C. W. Blake, P. Griffin, and G. H. Jones. 2012. The partial replacement of soyabean meal and rapeseed meal with feed grade urea or a slow-release urea and its effect on the performance, metabolism and digestibility in dairy cows. Animal, *6*: 920-927.
50- Song, M. K, and J. J. Kennelly. 1989. In situ degradation of feed ingredients, fermentation pattern and microbial population as influenced by ruminal ammonia concentration. Canadian Journal of Animal Science, 69: 999-1006.
51- Taylor-Edwards, C.C., N. A. Elam, S. E. Kitts, K. R. McLeod, D. E. Axe, E. S. Vanzant, and D. L. Harmon. 2009. Influence of slow-release urea on nitrogen balance and portal-drained visceral nutrient flux in beef steers. Journal Of Animal Science, 87: 209-221.
52- Tedeschi, L.O., M. J. Baker, D. J. Ketchen, and D. G. Fox. 2002. Performance of growing and finishing cattle supplemented with a slow-rlease urea product and urea. Canadian journal of animal science, 82: 567-573.
53- Umunna, N. N, and B. A. Maisamari. 1981. The replacement value of sugarcane molasses for maize in sheep-fattening rations. Journal of the Science of Food and Agriculture, 32: 489-492.
54- Valadares, R. F. D., G. A. Broderick, S. C. Valadares Filho, and M. K. Clayton. 1999. Effect of replacing alfalfa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. Journal of Dairy Science, 94: 2686-2696.
55- Van Soest, P.J, 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant. 2nd ed. Cornell University Press, Ithaca, NY.
56- Vergara, H., A. Molina, and L. Gallego. 1999. Influence of sex and slaughter weight on carcass and meat quality in light and medium weight lambs produced in intensive systems. Meat Science, 52: 221-226.
57- Wanapat, M, 2009. Potential uses of local feed resources for ruminants. Tropical Animal Health and Production, 41: 1035-1349.
58- Wood, J. D., M. Enser, A. V. Fisher, G. R. Nute, P. R. Sheard, R. I. Richardson, and F. M. Whittington. 2008. Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. Meat Science, 78: 343-358.
59- Xin, H. S. D. M. Schaefer, Q. P. Liu, D. E. Axe, and Q. X. Meng. 2010. Effects of polyurethane coated urea supplement on *In vitro r*uminal fermentation, ammonia release dynamics and lactating performance of holstein dairy cows fed a steam-flaked corn-based diet. Asian-Australian Journal of Animal Science, 23: 491-500

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 11, No. 3, Fall 2019, p. 273-291

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد 11، شماره 3، پاییز 1398، ص. 291-273

Effects of Dietary Slow Release Urea and Molasses on Growth Performance, Digestibility, Ruminal Fermentation and Carcass Traits of Fattening Lambs

M. R. Mashayekhi[1], M. Sari[2]*, N. Erfani-majd[3], M. Rezaei[4]

Received: 06-02-2018
Accepted: 10-06-2018

Introduction One of the limitations of conventional urea usage in ruminant diet is rapid hydrolysis and increase in ruminal ammonia concentration and its lack of synchrony with carbohydrate degradation and microbial growth in the rumen. An alternative strategy is continuous supply of nitrogen using slow release urea (SRU) and gradual release of ammonia in the rumen. Sugar-containing liquid feeds can increase the energy density of the diet, stimulate dry matter intake (DMI), and serve as carriers for fat, non-protein nitrogen (NPN), and other ingredients. Sugars can change the ruminal fermentation pattern, typically decreasing ruminal NH3 concentration and increasing ruminal butyrate concentration. The purpose of this study was to investigate the effects of SRU in comparison with conventional urea, with or without the addition of molasses on the growth performance and rumen fermentation of fattening lambs.

Materials and Methods The experiment was conducted in a completely randomized design with 5 treatments including control, two sources of non-protein nitrogen (conventional urea and SRU) with or without molasses (0 and 20 % of ration DM) and 7 replicates using 35 Arabian lambs. Forage to concentrate ratio was 30 to 70. The length of the fattening period was 105 days, including 15 days for adaptation and 90 days of data collection. At the beginning of the main period of fattening and then once a month, weighing the lambs was carried out with 14 to 16 hours of starvation. The lambs had free access to water during the test period. The lambs were fed the total mixed ration ad libitum twice daily at 0800 and 1600 hours. The digestibility coefficients of dry matter (DM), organic matter (OM), crude protein (CP), neutral detergent fiber, (NDF), acid detergent fiber (ADF) and ether extract (EE) were determined by the total fecal collection method. Daily feed intake, daily weight gain, feed conversion ratio, carcass compositions, meat colour, rumen and blood parameters were recorded. Data were analyzed as a completely randomized design using the General Linear Model (GLM) procedure of SAS.

Results and Discussion Replacement of urea with SRU and the addition of molasses did not affect dry matter intake, daily weight gain, feed conversion ratio, final body weight, cold and hot carcass weight, carcass efficiency and components, meat colorimetric parameters and nutrient digestibility. The lack of difference between control and treatment groups in the growth performance could be due to sufficient supply of the microbial protein production in the rumen. Addition of SRU and molasses did not have a significant effect on dry matter intake and digestibility of nutrients. The hydrolysis rate of SRU may not be reduced to the extent that it could improve the efficiency of rumen microorganisms in utilizing the available energy source of molasses. Propionate and NH_3-N concentration in the rumen increased in animals provided with NPN in comparison with the control diet. The concentration of acetate in rumen of animals fed diets containing NPN sources was lower than those on the control diet. The concentration of total volatile fatty acids in SRU diets and also diets containing conventional urea was higher than control diet. Molasses addition in diets, increased butyrate and total volatile fatty acids and decreased blood urea nitrogen concentrations, compared to control diet. Animals fed NPN diets showed higher rumen pH than the control diet. The ruminal pH decreased in diets containing molasses. Reducing the saliva secretion, due to the physical and chemical properties of molasses and the high

1-Ph.D Student of Animal Science Department, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Ahvaz, Iran.
2-Associate Professor, Animal Science Department, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Ahvaz, Iran.
3- Professor, Vererinary faculty, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran.
4-Assistant Professor, Animal Science Research Institute, Karaj-Iran.
(*-Corresponding Author Email: m.sari@asnrukh.ac.ir)

amount of fermentable sugars supplied by molasses in the rumen, may possibly explain the decrease in the rumen pH. Animals that had received urea containing diets showed higher rumen pH presumably due to the buffering capacity of urea. An increase in ruminal ammonia concentration due to urea hydrolysis can increase the pH of the rumen by obtaining H^+ by ammonia and turning it into NH_4^+. However, it is likely that the result reflects the higher grain content of the control diet relative to NPN containing diets.

Conclusion In general, the results of the present study showed that although replacement of soybean meal with conventional urea and/or SRU, with or without molasses, in high concentrate diets, influenced some rumen fermentation and blood metabolites, but these changes were not large enough to improve fattening performance, carcass characteristics and nutrient digestibility.

Key words: Digestibility, Fattening Performance, Molasses, Rumen Fermentation, Slow Release Urea.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 11, No. 3, Fall 2019, p. 293-306

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد 11، شماره 3، پاییز 1398، ص. 306-293

اثر جایگزینی سطوح مختلف سبوس برنج روغن‌کشی شده با کنجاله سویا بر تولید و ترکیبات شیر، نمره وضعیت بدنی و برخی فراسنجه‌های خونی گاوهای شیری

یداله چاشنی دل[1*]، سیروس شکرالهی[2]، مصطفی یوسف الهی[3]، اکبر سلیمانی[4] و مهدی بهاری[5]

تاریخ دریافت: 1396/12/05
تاریخ پذیرش: 1397/07/29

چکیده

به منظور تعیین اثرات جایگزینی سطوح مختلف سبوس برنج روغن‌کشی شده با کنجاله سویا، بر تولید و ترکیبات شیر، الگوی اسیدهای چرب شیر، نمره وضعیت بدنی و برخی فراسنجه‌های خونی گاوهای شیری، آزمایشی با استفاده از تعداد 12 راس گاو شیرده نژاد سیمنتال دو شکم زایش، با میانگین وزن ابتدای دوره27±630 کیلوگرم، میانگین تولید شیر 1/7 ±35 لیتر در روز و میانگین روزهای شیردهی17± 109روز در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل جیره شاهد فاقد سبوس برنج روغن‌کشی شده و جیره‌های حاوی سبوس روغن‌کشی شده جایگزین 50، 75 و 95 درصد از کنجاله سویا بود. نتایج آزمایش نشان داد که جیره‌های آزمایشی در مجموع اثر معنی‌داری بر ترکیب و تولید شیر داشتند، طوری که تولید شیر در تیمار حاوی سبوس برنج روغن‌کشی شده جایگزین شده با 75 درصد از کنجاله سویا، بیش از سایر تیمارهای آزمایشی بود. نمره وضعیت بدنی به طور معنی‌داری تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت. اثر تیمارها روی الگوی اسیدهای چرب شیر معنی‌دار نبود. همچنین افزودن سبوس روغن‌کشی شده برنج، تأثیر معنی‌داری روی فراسنجه‌های خون داشت، طوری که با افزایش سطح سبوس برنج در جیره تا 75 درصد جایگزین کنجاله سویا، سبب کاهش معنی‌داری مقادیر فراسنجه‌های خونی به جز گلوکز شد. با توجه به نتایج حاصل از این آزمایش، سبوس برنج روغن‌کشی شده جایگزین 75 درصد از کنجاله سویا در جیره نسبت به تیمار شاهد باعث افزایش تولید شیر و کاهش درصد چربی در گاوهای شیری شد.

واژه‌های کلیدی: اسیدهای چرب شیر، سبوس برنج، فراسنجه‌های خونی، گاو شیری، محصولات فرعی غلات

مقدمه

در تغذیه و تأمین خوراک دام به جز مواد اصلی شناخته شده نظیر یونجه، دانه جو، دانه ذرت، سبوس گندم و غیره، ضایعات و پس مانده‌های غیرقابل مصرف حاصل از صنایع تبدیلی وجود دارند که به خوبی می‌تواند در تغذیه دام مورد استفاده قرار گیرد. استفاده از فرآورده‌های جانبی بخش کشاورزی که اغلب از قیمت کمتری برخوردارند، از دیرباز مد نظر محققان قرار گرفته است و به دلیل وجود برخی مشکلات در زمینه استفاده مستقیم این فرآورده‌ها در تغذیه دام، فرآوری آنها به روش‌های گوناگون ضروری به نظر می‌رسد (41). در این میان محصولات فرعی حاصل از عمل‌آوری غلات، نظیر سبوس گندم و سبوس برنج به دلیل تولید زیاد و قیمت پایین از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. سبوس برنج را می‌توان یکی از عمده‌ترین محصولات فرعی فرآوری این غله در جهان نام برد. عمده‌ترین مشکل در استفاده از سبوس برنج، فسفر فیتاته، روغن و سیلیس زیاد موجود در آن می‌باشد (17). تراکم مواد مغذی در سبوس برنج متنوع می‌باشد، به صورتی که این تنوع به طور عمده به دلیل نوع واریته برنج، فرآیند روغن‌کشی از سبوس و نیز نسبت پوسته خارجی به پوسته نرم یا پوسته داخلی آن می‌باشد. در کشورهای توسعه یافته به منظور جلوگیری از فساد زود هنگام سبوس برنج، آن را روغن‌کشی نموده و از روغن حاصله به منظور مصارف انسانی و از باقیمانده آن در تغذیه دام و طیور استفاده می‌نمایند (4).

مخلوط‌کردن سبوس برنج با کنسانتره‌ها باعث افزایش سرعت عبور خوراک در دستگاه گوارش دام می‌شود و همچنین اندازه ذرات

1-دانشیار گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
2-دانش آموخته کارشناسی ارشد، تغذیه دام، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کاشمر
3- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل
4- استادیار گروه علوم دامی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کاشمر
5- دکتری تغذیه دام، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
(*- نویسنده مسئول: ychashnidel2002@yahoo.com)
Doi:10.22067/ijasr.v11i3.71195

ریز سبوس، مقدار نشاسته کم و روغن زیاد آن باعث نامتعادلی تغذیه می‌شود و ارزش تغذیه‌ای آن را کاهش می‌دهد (50). نتایج مطالعات روی گاوهای شیری نشان داد که مصرف سبوس برنج چربی‌گرفته شده سبب بهبود نمره وضعیت بدنی (20) و افزایش وزن (19، 20) شد. ترکیب و الگوی اسیدهای چرب شیر در دام‌های شیری در دو مطالعه تحت تأثیر تیمار سبوس برنج قرار گرفت (12، 36). نتایج برخی تحقیقات نشان داد که استفاده از سبوس برنج در جیره، سبب کاهش سطح کلسترول سرم خون در حیوانات شد (1، 4). نتایج تحقیقات مختلف روی دام‌های شیری نشان داد که اثرات سبوس برنج روی ترکیب اسیدهای چرب شیر متفاوت است طوری که، نتایج مطالعات روی بزهای شیری (12) و گاوهای شیری هلشتاین (26) نشان داد افزودن سبوس برنج در جیره اثر معنی‌داری روی ترکیب اسیدهای چرب شیر نداشت، ولی نتایج دو آزمایش روی گاوهای شیری نشان داد که افزودن روغن سبوس برنج باعث افزایش غلظت اسید چرب لینولئیک ترانس نسبت به تیمار شاهد شد (28) و استفاده از سطح 20 درصد سبوس برنج در جیره، سبب افزایش معنی‌دار اسید پالمتیک، اسید استئاریک و اسید اولئیک شیر در بزهای شیری شد (33). محصولات فرعی غلات حاوی مقادیری روغن هستند و مقدار اسیدهای چرب غیراشباع در آنها اهمیت زیادی دارد، طوری که برخی مطالعات نشان می‌دهد که استفاده از محصولات فرعی و همچنین دانه‌های غلات حاوی روغن در جیره، روی ترکیب اسیدهای چرب در بافت‌های مختلف بدن حیوانات مزرعه تأثیر می‌گذارد (34). همچنین، اسیدهای چرب غیراشباع ممکن است به واسطه تغییر متابولیسم چربی‌ها، از تجمع تری‌گلیسریدها در کبد جلوگیری کنند (52). نتایج یک مطالعه روی گاوهای شیری نشان داد که افزودن سبوس برنج چربی‌گرفته شده در جیره غذایی سبب افزایش گلوکز خون نسبت به سایر تیمارها شد (43). همچنین نتایج مطالعات نشان داد که استفاده از سبوس برنج در جیره غذایی گاوهای شیری (19) و بزهای شیری (36) قابل توصیه می‌باشد. سبوس برنج روغن‌کشی شده از نظر پروتئین و کربوهیدرات های ساختمانی بیشتر و از نظر چربی کمتر از سبوس خام می باشد (52). طی دهه‌های اخیر در بسیاری از کشورهای در حال توسعه، تقاضا برای فرآورده‌های دامی در نتیجه بهبود شرایط اقتصادی و اجتماعی رشد قابل توجهی داشته است. این در حالی است که امکانات زراعی نه تنها افزایش نمی‌یابد بلکه در اثر بهره‌برداری بی‌رویه کاهش یافته و در بسیاری از نقاط جهان در روند تخریبی قرار گرفته است. در جامعه امروز که با افزایش قیمت غلات مواجه هستیم، استفاده از محصولات فرعی کشاورزی در دامپروری بسیار حائز اهمیت می‌باشد. با توجه به مقدار تولید قابل توجه سبوس برنج در استان‌های شمالی کشور، قیمت پایین آن و امکان جایگزین شدن به جای بخشی از اجزای جیره و از طرفی به دلیل وجود روغن غیر اشباع موجود در آن به نظر می‌رسد روغن‌کشی آن احتمالاً موجب افزایش مدت نگهداری و بهبود ارزش تغذیه‌ای آن خواهد شد. با توجه به استفاده از فرآورده‌های جانبی بخش کشاورزی به منظور کاهش هزینه هر واحد جیره و یا تولید که از دیرباز مد نظر محققان قرار گرفته است، همچنین با توجه اهمیت و ارزش تغذیه‌ای و اقتصادی مواد خوراکی پروتئینی در جیره گاوهای شیری، جاگزینی این فرآورده‌های جانبی کشاورزی با بخش تامین کننده پروتئین جیره مانند کنجاله سویا ضروری و اقتصادی به نظر می‌رسد. لذا این پژوهش، با هدف بررسی اثرات مصرف سطوح مختلف سبوس برنج روغن‌کشی شده بر فراسنجه‌های شیر، الگوی اسیدهای چرب شیر، نمره وضعیت بدنی و برخی فراسنجه‌های خونی گاوهای شیری انجام شد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در یک مزرعه خصوصی پرورش گاو شیری واقع در استان مازندران، شهرستان آمل در سال 1395 انجام شد. سیستم نگهداری دام‌ها به صورت نیمه باز و مکان نگهداری گاوهای مورد آزمایش در 12 جایگاه انفرادی با آخور و آبخوری مجزا بود. گاوهای مورد آزمایش در این آزمایش با توجه به تعداد زایش، روزهای شیردهی و مقدار تولید شیر روزانه، از بین گاوهای نژاد سیمنتال شکم دوم در اوایل دوره شیرواری انتخاب شدند. برای انجام این آزمایش تعداد 12 رأس گاو شیرده نژاد سیمنتال که همگی دو زایش داشتند و با میانگین وزن ابتدای دوره آزمایش 27±630 کیلوگرم، میانگین تولید شیر 1/7±35 لیتر در روز و میانگین روزهای شیردهی17± 109روز استفاده شد.

جیره‌های آزمایشی به صورت جیره کاملاً مخلوط و هر روز دو بار (صبح و عصر) در اختیار گاوها قرار گرفت. شیردوشی در ساعات شش صبح و 18 عصر هر روز و به صورت انفرادی برای دام‌های آزمایشی انجام شد. این آزمایش با تعداد 12 رأس گاو شیرده در چهار دوره 21 روزه (هر دوره شامل دو هفته سازگاری و یک هفته دوره آزمایش) اجرا شد. سبوس تیمارهای آزمایشی شامل: تیمار شاهد و تیمار های حاوی 50، 75 و 95 درصد کنجاله سبوس برنج جایگزین شده ی بخشی از کنجاله سویا در جیره غذایی دام های آزمایشی بود. جیره-های غذایی گاوها بر اساس جداول استاندارد انجمن تحقیقات ملی آمریکا (NRC, 2001) و با استفاده از نرم‌افزار جیره‌نویسی (NRC, 2001) تنظیم شدند به طوری که جیره تیمار های آزمایشی از نظر انرِی و پروتیین یکسان باشند. (جدول 1).

جدول 1- ترکیب مواد خوراکی و تجزیه شیمیایی جیره‌های آزمایشی کاملاً مخلوط حاوی سطوح مختلف سبوس برنج روغن‌کشی شده (بر اساس ماده خشک)

Table1- Composition of ingredient and chemical analysis of TMR experimental containing different levels of de-oiled rice bran (based on dry matter)

ماده خوراکی Ingredient	جیره های آزمایشی [1] Experimental diets[1]			
	تیمار 1 T1	تیمار 2 T2	تیمار 3 T3	تیمار 4 T4
علوفه یونجه Alfalfa hay	12.46	12.15	11.85	11.35
سیلاژ ذرت Corn Silage	18.60	18.30	17.84	17.05
کاه گندم Wheat straw	12.46	12.15	11.85	11.35
شلغم علوفه ای Brassica rapa	12.46	12.15	11.85	11.35
دانه جو Barley grain	12.60	12.15	11.85	11.35
جو فلیک Barley flake	4.98	4.86	4.74	4.54
کنجاله سویا Soybean meal	8.72	5.83	3.20	0.85
سبوس برنج بدون روغن de-oiled rice bran	0	5.10	9.96	16.00
سبوس گندم Wheat bran	16.57	16.17	15.76	15.09
پودر صدف Oyster Powder	0.18	0.18	0.17	0.17
مکمل معدنی و ویتامینی Mineral & Vitamin premix[2]	0.18	0.18	0.17	0.17
بیکربنات سدیم Sodium Bicarbonate	0.61	0.60	0.59	0.56
نمک Salt	0.18	0.18	0.17	0.17
ترکیبات شیمیایی Chemical composition				
انرژی خالص شیردهی NEL (Mcal/kg)	1.35	1.35	1.35	1.35
پروتئین خام Crude protein (%)	15.15	15.18	15.12	15.10
ماده خشک Dry matter (%)	51.50	51.85	51.30	51.17
فیبر نامحلول در شوینده اسیدی ADF[3] (%)	21.35	21.85	21.50	22.10
فیبر نامحلول در شوینده خنثی NDF[4] (%)	33.30	23.13	23.10	33.00
عصاره اثری Ethereal extract (%)	2.17	2.05	1.90	1.95
کلسیم Calcium (%)	1.35	1.39	1.32	1.35
فسفر Phosphorus (%)	0.83	0.91	0.90	0.94

1 جیره های آزمایشی شامل: جیره شاهد و جیره های حاوی 50، 75 و 95 درصد کنجاله سبوس برنج جایگزین شده ی بخشی از کنجاله سویا در جیره غذایی دام های آزمایشی بود.
2 هر کیلوگرم از مکمل شامل 500000: واحد بین المللی ویتامین آ،100000واحد بین المللی ویتامین د و 1/0 گرم ویتامین ای. هر کیلوگرم از مکمل شامل 180: گرم کلسیم، 90 گرم فسفر، 20 گرم منیزیم، 60گرم سدیم، 2 گرم منگنز، 3 گرم آهن، 3.0 گرم مس، 3 گرم روی، 1/0گرم کبالت،1/0 گرم سلنیم، 1/0 گرم ید،3 گرم آنتی اکسیدانت.

[1] Experimental diet include: control diet, no de-oiled rice bran and diet containing de-oiled rice bran with 50, 75 and 90% replacement ratios with soy meal in the diet.
[2] The supplements including: 500,000 IU vitamin A, 100,000 IU vitamin D, 0.1 g vitamin E, 180 g Ca, 90 g P, 20 g Mg, 60 g Na, 2 g Mn,, iron, 3 grams, 0.3 grams of copper, 3 g zinc, 1.0 g of cobalt, 1/0 grams of selenium, 1.0 grams of iodine, 3 g of antioxidant. per kg.
[3]ADF: Acid detergent fiber, [4]NDF: Neutral Detergent Fiber

سبوس برنج روغن‌کشی شده مورد استفاده در این آزمایش از کارخانه روغن‌کشی مازند سبوس، واقع در استان مازندران، شهرستان بابلسر تهیه شد (جدول 2). روش فرآوری سبوس برنج روغن‌کشی شده در کارخانه به روش پرس سرد (روغن گیری با فشردن سبوس بدون حرارت) انجام شد. در این روش ابتدا سبوس برنج فیلتر و ناخالصی‌های آن جدا و سپس سبوس وارد دستگاه پرس (مدل دستگاه کالیبر400 با ظرفیت 16 تا 25 تن در 24 ساعت) و توسط محور مارپیچ چرخان پیش رانده می شوند. در نتیجه روغن توسط فشار دستگاه از سبوس برنج خارج می شوند. پس از آنکه روغن از دستگاه پرس خارج شد؛ وارد صافی‌های متوالی شد که وظیفه آن جدا کردن ذرات ریز نظیر پوسته از محتوی روغن است. در مرحله آخر، روغن از صافی عبور کرد تا از جدا شدن تمام ناخالصی ها اطمینان حاصل شود و در نهایت سبوس برنج روغن کشی شده و یا کنجاله سبوس برنج به دست می آید. پس از پایان هر دوره آزمایش، گاوها به دقت از لحاظ بدنی مورد بررسی قرار گرفتند و به هر گاو از طریق شاخص‌هایی که در نمره وضعیت بدنی وجود داشت، از نمره یک الی پنج (نمره یک و پنج به ترتیب لاغرترین و چاق‌ترین حیوان) امتیازدهی شد (51) و همچنین ارزیابی نمره وضعیت بدن توسط یک فرد ثابت انجام و نتایج و امتیازات به دست آمده گاوها در هر دوره ثبت شد. هر دوره آزمایشی شامل 14 روز عادت‌دهی و هفت روز دوره اصلی آزمایش (نمونه‌گیری و رکوردگیری شیر) بود. نمونه‌گیری هر روز 8 صبح و 16 عصر انجام شد. پیش از نمونه‌گیری مقدار 0/006 گرم دی کرومات پتاسیم به ازای هر میلی‌لیتر شیر در داخل ظروف نمونه‌گیری ریخته شد. نمونه-برداری در یک قوطی پلاستیکی به ظرفیت 30 میلی لیتر انجام شد. با توجه به اینکه درصد چربی و مقدار تولید شیر در دوشش صبح و عصر با هم متفاوت است بدین منظور نمونه‌های شیر از مخلوط دوشش صبح و عصر و متناسب با میزان تولید در هر وعده گرفته شدند و برای آزمایش به آزمایشگاه اداره کل دامپزشکی استان مازندران ارسال شد.

در آخرین روز هر دوره آزمایشی و در ساعت 10 صبح از تمامی گاوهای آزمایشی نمونه خون از ورید دمی گرفته و نمونه‌های خون بلافاصله به آزمایشگاه اداره دامپزشکی شهرستان آمل منتقل شد و برای جدا نمودن سرم در دستگاه سانتریفیوژ با 3000 دور به مدت 10 دقیقه قرار گرفت. سرم جدا شده از نمونه‌ها بلافاصله به آزمایشگاه دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی ساری به منظور تعیین فراسنجه‌های خونی مورد نظر منتقل شد.

غلظت چربی و پروتئین نمونه شیر به وسیله دستگاه میلکواسکن مدل (Milkoscan 4000; Foss, Hillerød, Denmark) موجود در آزمایشگاه اندازه‌گیری شد. غلظت گلوکز، تری‌گلیسرید و کلسترول و HDL خون با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (USA300 Alcyon) انجام و برای اندازه‌گیری غلظت فراسنجه‌ها از کیت‌های شرکت پارس آزمون استفاده شد (35). برای تعیین الگوی اسیدهای چرب شیر در ابتدا چربی نمونه‌ها استخراج شدند برای این کار 20 میلی لیتر شیر درون یک لوله آزمایش ریخته و با سرعت 2500 دور در دقیقه برای 10 دقیقه سانتریفیوژ شد.

جدول 2- تجزیه شیمیایی و الگوی اسیدهای چرب سبوس برنج روغن‌کشی شده مورد استفاده در آزمایش (درصد)

Table 2- Chemical analysis and fatty acid pattern of de-oiled rice bran used in the experiment (%)

ترکیبات Compositions	مقادیر Amounts
Crude protein پروتئین خام	21.65
Ether extract عصاره اتری	1.20
DM ماده خشک	90.25
NDF الیاف نامحلول در شوینده خنثی	52.54
ADF الیاف نامحلول در شوینده اسیدی	26.08
Total ash خاکستر کل	11.54
Composition of fatty acid ترکیبات اسیدچرب	
Oleic acid اسید اولئیک	41.11
Linoleic acid اسید لینولئیک	31.40
Palmitic acid اسید پالمیتیک	18.10
Myristic acid اسید میرستیک	0.4
Stearic acid اسید استئاریک	2.21
Linolenic acid اسید لینولنیک	2.00
Arachidic acid اسید آراشیدونیک	0.61

در مرحله بعد یک گرم از چربی استخراج شده شیر در لوله‌های آزمایش ریخته شدند و مقدار پنج میلی لیتر سود متانولی دو درصد هر یک میلی لیتر استاندارد داخلی (اسید انروسیک 22:1) به آنها افزوده شد و در آنها محکم بسته شد. سپس برای مدت 10 دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شدند لوله‌ها از حمام آب جوش خارج و برای سرد شدن در دمای اتاق قرار گرفتند. مقدار سه دقیقه در حمام آب جوش

قرار گرفتند و سپس لوله‌ها از حمام آب جوش خارج شده و مقدار یک میلی‌لیتر هگزان به هر کدام از آنها افزوده شد و محتویات لوله ها کاملاً مخلوط شد و پس از آن یک میلی لیتر محلول کلرید سدیم (30 درصد) به هر لوله اضافه شد و سپس لوله‌ها در جا لوله‌ای قرار داده شدند تا محتویات آنها به دو لایه بالایی و پایینی جدا شوند. محلول بالایی جدا و مقدار 0/2 میکرو لیتر با سرنگ به دستگاه گاز کروماتوگرافی تزریق شد. با توجه به سطح زیر پیک و غلظت استاندارد داخل و نیز سطح زیر هر کدام از اسیدهای چرب، غلظت کل اسیدهای چرب و غلظت هر کدام از اسیدهای چرب محاسبه شد (32). همچنین به منظور تعیین ترکیب اسیدهای چرب در این آزمایش از اسید چرب استاندارد (C15) استفاده شد. همچنین برای اندازه گیری پروفایل اسیدهای چرب سبوس برنج روغن‌کشی شده، ابتدا متیل استر اسیدهای چرب تهیه شد و آنالیز متیل استر اسیدهای چرب مطابق روش استاندارد (4) انجام شد. به منظور آنالیز متیل استر اسیدهای چرب، از دستگاه گازکروماتوگرافی استفاده شد. مشخصات دستگاه گازکروماتوگرافی مورد استفاده در این مطالعه برای اندازه‌گیری الگو اسیدهای چرب شیر و سبوس برنج روغن‌کشی شده به صورت مدل دستگاه GC: یونی کم 4600 ستون: Bpx70 ،30 m ،0/25 mmID *0/22 µ film* درجه حرارت تزریق: 250 درجه سانتیگراد، درجه حرارت دتکتور: 300 درجه سانتیگراد، گاز ناقل: هلیوم و میزان تزریق: 0/2 میکرولیتر بود.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های حاصل شده در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و سه تکرار که شامل سطوح صفر، 50، 75 و 95 درصد سبوس برنج روغن‌کشی شده جایگزین شده با کنجاله سویا با استفاده از تعداد 12 رأس گاو شیرده نژاد سیمنتال و با اندازه‌های تکرار شونده در زمان با استفاده از رویه Mixed نرم افزار آماری SAS ویرایش (9/1) و بر اساس مدل زیر تجزیه و تحلیل شدند، که در این فرمول y_{ijk} مشاهده مربوط به تیمار i در زمان اندازه‌گیری j و در تکرار k، µ میانگین کل مشاهدات، T_i اثر تیمار iام، $Ea_{i.k}$ اثر اشتباه اصلی،j، اثر زمان اندازه-گیری jام، $T\times t_{ij}$ اثر برهم کنش تیمار iام با زمان اندازه‌گیری jام و Eb_{ijk} اثر خطای فرعی بود و همچنین مقایسه میانگین تیمارها نیز با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن انجام شد.

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + Ea_{i.k}+t_j+T_i*t_{ij}+Eb_{ijk}$$

نتایج و بحث

تولید و ترکیبات شیر

اثر جیره‌های آزمایشی بر تولید و ترکیبات شیر گاوها در جدول (3) نشان داد که جیره‌های آزمایشی اثر معنی‌داری بر تولید شیر داشت (P<0/05). طوری که، تولید شیر در تیمار سوم حاوی سبوس برنج روغن‌کشی شده جایگزین شده با 75 درصد از کنجاله سویا، بیش از سایر تیمارهای آزمایشی بود و کمترین مقدار تولید شیر نیز مربوط به تیمار چهارم که حاوی سبوس برنج روغن‌کشی شده جایگزینی با 95 درصد از کنجاله سویا بود که تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها داشت (P<0/05). همچنین نتایج جدول (3) نشان داد که بیشترین درصد چربی شیر در تیمار اول و کمترین مقدار چربی شیر در تیمار سوم که به ترتیب تیمار شاهد و تیمارحاوی سبوس برنج روغن‌کشی شده جایگزین شده با 75 درصد از کنجاله سویا بود که اختلاف معنی‌داری با تیمارهای دیگر داشتند (P<0/05). احتمالاً تولید بیشتر شیر در این تیمار ممکن است سبب درصد چربی کمتر در شیر باشد. رابطه معکوس بین میزان تولید شیر و درصد چربی شیر وجود دارد که با افزایش تولید شیر درصد چربی شیر کاهش می‌یابد. می‌دهد (21). ترکیب جیره نه تنها بر تعداد کل میکروارگانیسم‌های شکمبه اثر گذار است بلکه در رشد نسبی جمعیت گونه‌ای خاص از یک نوع میکروارگانیسم نیز مؤثر است. با مصرف جیره دارای الیاف خام زیاد مانند سبوس برنج، باکتری‌های تجزیه کننده سلولز (مثل فیبروباکترسوکسینوژنز) افزایش می‌یابند و همچنین در جیره‌های با دیوارهٔ سلولی (حدود 45 درصد) با افزایش تخمیرپذیری الیاف، دیوارهٔ سلولی و مادهٔ خشک مصرفی، تولید شیر و درصد پروتئین شیر افزایش می‌یابد که در نتایج جدول 3 نیز سطوح بالای سبوس برنج که دارای الیاف خام بالاتری بودند می‌تواند چنین مکانیسمی را در افزایش مقدار تولید شیر ارائه دهد. کاهش تولید شیر خام در نتیجه مصرف سطوح بالای فرآورده‌های فرعی غلات توسط تعدادی از محققین گزارش شده است (57، 45).

نتایج یک مطالعه نشان داد که با افزایش سطح سبوس برنج در جیره (تا 20 درصد) درصد چربی شیر به طور معنی‌داری افزایش یافت و همچنین تولید شیر نیز با افزایش بیشتر سطح سبوس برنج به طور معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها کاهش یافت (36)که در نتایج جدول 3 تحقیق حاضر این مورد یعنی کاهش مقدار تولید شیر در سطح بالاتر سبوس برنج در جیره غذایی مشاهد شد. برخلاف این نتایج، در دو مطالعه روی بزهای شیری (12) و گاوهای شیری هلشتاین (26) نشان داد که افزودن سبوس برنج در جیره اثر معنی‌داری روی تولید و ترکیبات شیر نداشت. از عوامل موثر در چربی شیر می‌توان به نسبت علوفه به کنسانتره، مقدار و مقدار منبع الیاف غیر نامحلول در شوینده خنثی، اندازه قطعات علوفه و مقدار و منبع نشاسته، مقدار و منبع چربی در جیره غذایی و تعداد وعده‌های خوراک‌دهی اشاره کرد (32). مصرف مقدار کافی الیاف و مواد خشبی برای تولید طبیعی و سلامتی گاوهای شیری ضروری است. از طرفی وجود مقادیر زیادی الیاف، ماده خشک مصرفی و در ادامه بازده میکروبی و تولید شیر را محدود می کند.

جدول 3- اثر جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف سبوس برنج روغن‌کشی شده بر ترکیبات شیر در گاوهای شیری

Table 3- Effect of experimental diets containing different levels of de-oiled rice bran on milk composition in dairy cows

ترکیب شیر Milk composition	تیمارهای آزمایشی[1] Experimental treatments[1]				SEM	P-value
	تیمار 1 T1	تیمار 2 T2	تیمار 3 T3	تیمار 4 T4		
چربی (درصد) Fat (%)	4.21[a]	3.61[b]	3.54[b]	3.72[b]	0.11	0.04
پروتئین (درصد) Protein (%)	3.07[a]	3.55[a]	2.90[b]	2.77[b]	0.05	0.02
سلول های سوماتیک (تعداد×1000 میلی لیتر) Somatic cells (SCC × 1000/ml)	217.67	220.42	218.25	215.42	18.74	0.06
تولید شیر (لیتر) Milk yield (liters)	30.17[b]	33.33[a]	34.71[a]	29.42[b]	1.25	0.03

[1]تیمارهای آزمایشی شامل: تیمار شاهد و تیمار های حاوی 50، 75 و 95 درصد کنجاله سبوس برنج جایگزین شده ی بخشی از کنجاله سویا در جیره غذایی دام های آزمایشی بود.

[2]میانگین‌هایی که در هر ستون با حروف لاتین متفاوت نشان داده شده است دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P< 0/05).

[1]Experimental diet include: control diet, no de-oiled rice bran and diet containing de-oiled rice bran with 50, 75 and 90% replacement ratios with soy meal in the diet

[2]Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).

پس نیاز به یک میزان کمینه و حداقل الیاف نیاز داریم تا سلامت حیوان، میزان و درصد چربی، مصرف ماده خشک، مصرف انرژی و تولیدشیر در حداکثر باشد. این مقدار موثر و کمینه الیاف خام قسمتی است که نشخوار، میزان عبور غذا از شکمبه، ترشح بزاق، تولید استات شکمبه‌ای و درصد چربی را تحریک می‌کند (6 و 23).دلایل مختلفی را برای تغییر در میزان تولید شیر مانند افزایش گوارش پذیری سلولز، همی‌سلولز و دیگر مواد مغذی، افزایش خوراک مصرفی روزانه، تغییر در نسبت اسیدهای چرب فرارمایع شکمبه وجود دارد. نتایج یک مطالعه نشان داد که گاوهای دورگه تغذیه شده با کاه برنج غنی شده با اوره به همراه سبوس برنج دارای اختلاف معنی‌داری در تولید شیر، درصد چربی و پروتئین شیر بودند، طوری‌که مقدار تولید و درصد پروتئین شیر نسبت به تیمار شاهد افزایش ولی درصد چربی آن کاهش یافت (3). تأمین مقدار بیشتر کربوهیدرات‌های سریع‌التخمیر در شکمبه باعث افزایش تولید پروپیونات و سنتز پروتئین میکروبی می‌شود که با افزایش درصد پروتئین شیر و تولید همراه است (49). پروتئین میکروبی تولید شده در شکمبه مهم‌ترین منبع اسیدهای آمینه جذب شده از روده باریک را تشکیل می‌دهد که از طریق گردش خون به سلول‌های پستان منتقل می‌شوند و برای تولید پروتئین‌های شیر استفاده می‌شوند (31). در تحقیق حاضر، افزایش درصد پروتئین شیر در تیمار دوم حاوی سبوس روغن‌کشی شده جایگزین 50 درصد سویا نسبت به تیمار شاهد معنی‌داری نشد. که با نتایج تحقیق روی گاوهای شیری (38، 47) و گاوهای دورگه (3) مغایر بود.

الگوی اسیدهای چرب شیر

نتایج اثر جیره‌های آزمایشی روی الگوی اسیدهای چرب شیر در جدول (4) نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین تیمارها وجود نداشت، که این امر ممکن است به این علت باشد که اسیدهای چرب غیر اشباع در سبوس برنج در شکمبه و یا انبار تبدیل به اسیدهای چرب اشباع می‌شوند. یکی از عوامل موثر بر الگوی اسیدهای چرب شیر که در سال‌های اخیر به آن پرداخته شده است، تولید اسیدهای چرب ترانس در شکمبه است. اسید لینولئیک کونژوگه مهم‌ترین اسید چرب ترانس است که با مهار آنزیم‌های دخیل در تولید اسیدهای چرب کوتاه و متوسط زنجیر، غلظت آن در چربی شیر را کاهش می‌دهد (5). نتایج مطالعات روی بزهای شیری (12) و گاوهای شیری هلشتاین (26) نشان داد افزودن سبوس برنج در جیره اثر معنی‌داری روی ترکیب اسیدهای چرب شیر نداشت که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت. برخلاف نتایج تحقیق حاضر، نتایج یک آزمایش روی گاوهای شیری نشان داد که افزودن روغن سبوس برنج باعث افزایش غلظت اسید چرب لینولئیک ترانس نسبت به تیمار شاهد شد (28) و همچنین در یک مطالعه دیگر استفاده از سطح 20 درصد سبوس برنج در جیره،

سبب افزایش معنی‌دار اسید پالمتیک، اسید استئاریک و اسید اولئیک شیر در بزهای شیری شد (33) که مخالف با نتایج تحقیق حاضر است. روغن‌های حاصل از منابع پروتئین گیاهی منابع چربی هستند که در جیره گاوها شیری برای افزایش دریافت انرژی به منظور حمایت از تولید بالاتر شیر در طول دوره شیردهی، مورد استفاده قرار می‌گیرند. علاوه بر این، مکمل‌های روغن‌های منابع گیاهی مانند سویا، آفتابگردان یا سبوس برنج به عنوان یک رویکرد تغذیه‌ای موثر برای افزایش اسید لینولئیک کونژوگه با ایزومری سیس 9 و ترانس 11، در شیردهی گاوهای شیری تأیید شده است (6 و11) همچنین مطالعات اخیر نشان داد که تغذیه گاوهای شیرده با روغن سبوس برنج توانست اسید لینولئیک کونژوگه (CLA) شیر را افزایش دهد، درحالی که بر تولید شیر بی‌تأثیر بود (28).

جدول 4- اثر جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف سبوس برنج روغن‌کشی شده بر الگوی اسیدهای چرب شیر (درصد) در گاوهای شیری

Table 4- Effect of experimental diets containing different levels of de-oiled rice bran on milk fatty acid pattern (%) in dairy cows

ترکیب اسیدهای چرب Composition of fatty acid	تیمارهای آزمایشی[1] Experimental treatments[1]				SEM	P-value
	تیمار 1 T1	تیمار 2 T2	تیمار 3 T3	تیمار 4 T4		
اسید دکانوئیک Decanoic acid	1.50	1.42	1.63	1.20	0.56	0.58
اسید لوریک Lauric Acid	1.13	1.05	1.60	1.73	0.42	0.81
اسید میریستیک Myristic acid	8.07	9.03	8.77	8.50	0.68	2.08
اسید پالمیتیک Palmitic acid	33.67	31.17	33.10	31.07	0.65	2.79
اسید پالمیتولئیک Palmitoleic acid	2.93	2.33	2.43	3.33	0.08	0.80
اسید استئاریک Stearic acid	11.17	11.97	13.60	12.83	0.14	1.66
اسید اولئیک Oleic acid	28.27	29.10	28.80	29.53	0.72	2.68
اسید لینولئیک Linoleic acid	2.73	4.20	3.30	3.33	0.73	1.11
اسید لینولنیک Linolenic acid	0.65	0.73	0.70	0.79	0.67	0.16
اسید آراشیدیک Arachidic acid	0.16	0.27	0.30	0.17	0.19	0.13
کل اسیدهای چرب اشباع Total saturated fatty acids	56.03	55.28	56.77	55.50	0.69	2.56
اسیدهای چرب با یک پیوند غیراشباع Monounsaturated fatty acids (MUFA)	30.20	31.43	30.23	32.20	0.58	2.75
اسیدهای چرب با چندپیوند غیراشباع Polyunsaturated fatty acids (PUFA)	4.38	4.93	3.85	4.15	0.63	1.15
کل اسیدهای چرب ترانس Total trans fatty acids	4.10	3.93	4.23	3.83	0.90	0.70

[1]تیمارهای آزمایشی شامل: تیمار شاهد و تیمار های حاوی 50، 75 و 95 درصد کنجاله سبوس برنج جایگزین شده ی بخشی از کنجاله سویا در جیره غذایی دام های آزمایشی بود.

[1]Experimental diet include: control diet, no de-oiled rice bran and diet containing de-oiled rice bran with 50, 75 and 90% replacement ratios with soy meal in the diet

ترکیب اسیدهای چرب شیر برآیندی از سوخت وساز (متابولیسم) شکمبه، آبکافت (هیدرولیز، ایزومریزاسیون و بیوهیدروژناسیون اسیدهای چرب) و سوخت وساز بافت‌های بدن (آزاد شدن اسیدهای چرب از بافت چربی) است (15). اسیدهای چرب شیر یا در سلول‌های اپیتلیال پستان ساخته می‌شود و یا از اسیدهای چرب گردش خون منشا می‌گیرند. حدود 50 درصد از کل اسیدهای چرب شیر از

پیش‌سازهای دوکربنه (استات) و چهار کربنه (بتاهیدروکسی بوتیرات) و از طریق تولید (*de novo*) در سلول‌های پستان ساخته می‌شود (25). بقیه اسیدهای چرب شیر که مستقیماً و بدون تغییر برای تولید تری‌گلیسریدهای شیر استفاده می‌شوند از لیپوپروتئین‌ها و اسیدهای چرب غیر استریفیه خون منشأ می‌گیرند که به ترتیب از لیپدهای جذب شده از دستگاه گوارشی و اسیدهای چرب آزاد شده از بافت‌های چربی بدن منشأ می‌گیرند. این اسیدهای چرب شامل نیمی از اسید پالمیتیک و تمام اسیدهای چرب دارای 18 کربن و بیشتر از بافت‌های چربی به ترتیب حدود 80 و 20 درصد از کل اسیدهای چرب خون را تشکیل می‌هند (7). امروزه تلاش‌های زیادی جهت تغییر الگوی اسیدهای چرب شیر از طریق تغذیه شده است. هدف از تغییر الگوی اسیدهای چرب شیر، بهبود ویژگی‌های آن برای کارخانه‌های شیر و افزایش اسیدهای چرب غیراشباع و کونژوگه است که بر سلامت انسان اثر مفیدی دارند (30).

تغیر الگوی اسیدهای چرب غیراشباع جیره به شیر به وسیله عوامل متعددی از قبیل بیوهیدروژناسیون شکمبه‌ای، جذب در روده باریک و انتقال به بافت‌های دیگر یا بافت پستان تحت تاثیر قرار می‌گیرد. بنابراین در سال‌های گذشته بیشترین تلاش‌ها برای الگوی اسیدهای چرب شیر بر کنترل بیوهیدروژناسیون اسیدهای چرب غیراشباع به وسیله میکروارگانیسم‌های شکمبه و جذب اسیدهای چرب غیراشباع به وسیله بافت پستان متمرکز شده است (6 و 22). بیوهیدروژناسیون شکمبه‌ای اسیدهای چرب غیراشباع در نشخوارکنندگان سبب تشکیل دامنه‌ای از چندین اسید چرب واسطه‌ای شده که به دنبال هضم و جذب وارد شیر می‌شوند به طوری که اسید لینولئیک به عنوان سوبسترای اصلی تبدیل به اسید لینولئیک کونژوگه و سپس اسیدهای چرب ترانس 18:1 می‌شود (9). تغذیه انواع مختلفی از منابع اسیدهای چرب غیراشباع به گاوهای شیری موجب افزایش غلظت اسیدهای چرب 18:0 و 18:1 در چربی شیر شد و در حالی‌که غلظت اسیدهای چرب کوتاه و متوسط زنجیر (تا14 کربنه) کاهش یافت، زیرا اسیدهای چرب یاد شده در این شرایط ممانعت‌کننده تولید چربی در غده پستانی هستند (10). غلات و محصولات فرعی آن حاوی مقادیری روغن هستند و مقدار اسیدهای چرب غیراشباع در آنها اهمیت زیادی دارد، شواهد نشان می‌دهد استفاده از این مواد و همچنین دانه‌های غلات حاوی روغن در جیره، بر ترکیب اسیدهای چرب در بافت‌های مختلف بدن حیوانات مزرعه تأثیر می‌گذارد (34). همچنین، اسیدهای چرب غیراشباع ممکن است به واسطه تغییر متابولیسم چربی‌ها، از تجمع تری‌گلیسریدها در کبد جلوگیری کنند (52).

نمره وضعیت بدنی

اثر جیره‌های آزمایشی بر نمره وضعیت بدنی گاوهای سمینتال در جدول (5) نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین تیمارها وجود نداشت. همسو با نتایج تحقیق حاضر، نتیجه یک مطالعه نشان داد که افزودن سبوس برنج چربی گرفته شده تأثیر معنی‌داری در نمره وضعیت بدنی گاوهای شیری در مقایسه با تیمار شاهد نداشت (20).

جدول 5- اثر جیره‌های آزمایشی تغذیه شده به گاوهای شیری حاوی سطوح مختلف سبوس برنج روغن‌کشی شده بر نمره وضعیت بدنی

Table 5- The Effects of experimental diets with different levels of de-oiled rice bran on body condition score (BCS) in dairy cows

	تیمارهای آزمایشی Experimental treatments				SEM	P-value
	تیمار 1 T1	تیمار 2 T2	تیمار 3 T3	تیمار 4 T4		
نمره وضعیت بدنی Body condition score (BCS)	4.67	4.00	4.06	4.83	0.66	0.06

[1]تیمارهای آزمایشی شامل: تیمار شاهد و تیمار های حاوی 50، 75 و 95 درصد کنجاله سبوس برنج جایگزین شده ی بخشی از کنجاله سویا در جیره غذایی دام های آزمایشی بود.

[1]Experimental diet include: control diet, no de-oiled rice bran and diet containing de-oiled rice bran with 50, 75 and 90% replacement ratios with soy meal in the diet

گاوهای تازه‌زا در اوج تولید شیر در توازن منفی انرژی قرار داشته و بنابراین امتیاز بدنی آنها کاهش می‌یابد، از این رو از ذخایر بدنی برای تولید شیر استفاد می‌کنند، به طوری که به ازای کاهش یک کیلوگرم از وزن بدن انرژی لازم برای تولید هفت کیلوگرم شیر را تأمین می‌کنند. گاوهایی که در اواخر شیردهی هستند در تعادل مثبت انرژی‌اند و ذخایر تازه‌ای نسبت به ذخایر از دست رفته در اوایل شیردهی به دست می‌آورند یعنی کاهش وزن اولیه را جبران می‌کند؛ پس نمره شرایط بدنی برای تمام مراحل شیردهی متغییر است. به

عبارت دیگر نمره شرایط بدنی ایده‌آل بستگی به مرحله شیردهی دارد و تولید شیر (39) و ترکیب شیر (46) گاوهای شیری را تحت تأثیر قرار می‌دهد. تلاش‌های قبلی زیادی به منظور توسعه مصرف جیره‌های با غلات کم با جایگزینی ذرت، جو و سویا با سبوس برنج روغن‌کشی شده برای خوک‌ها (18)، گوساله‌ها (29)، گاوهای دورگه (43) و میش‌ها (42) انجام شد.

فراسنجه‌های خونی

اثر جیره‌های آزمایشی روی برخی فراسنجه‌های خونی در جدول (6) نشان داد که اختلاف آماری معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی وجود داشت (P<0/05). بیشترین و کمترین مقادیر تری‌گلیسرید، کلسترول و HDL سرم خون به ترتیب در تیمار شاهد و تیمار حاوی 75 درصد سبوس برنج روغن‌کشی شده جایگزین با کنجاله سویا مشاهده شد و همچنین بیشترین و کمترین مقدار گلوکز خون به ترتیب در تیمارهای حاوی 75 درصد سبوس برنج روغن‌کشی شده جایگزین کنجاله سویا و تیمار شاهد مشاهده شد. نتایج نشان داد که با افزایش سطح سبوس برنج در جیره تا 75 درصد جایگزین کنجاله سویا، سبب کاهش معنی‌داری مقادیر فراسنجه‌های خونی به جز گلوکز شد. نتایج یک مطالعه روی سبوس برنج چربی‌گرفته شده در گاوهای بالغ دورگ نشان داد که افزودن سبوس برنج چربی‌گرفته شده در جیره غذایی سبب افزایش گلوکز خون نسبت به سایر تیمارها شد (43) که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت. در دو مطالعه روی موش‌ها مشاهده شد که تیمار حاوی سبوس برنج باعث کاهش معنی‌داری سطح کلسترول و تری‌گلیسرید سرم خون شد (14، 23). کاهش تری گلیسیرید پلاسما دردام های دریافت کننده جیره حاوی سبوس برنج روغن کشی شده را می‌توان به عواملی از جمله فیبر محلول، اسیدهای چرب غیر اشباع و سایر ترکیبات جیره ای که می‌تواند موجب کاهش تولید کلسترول شوند نسبت داد (26).

جدول 6-اثر جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف سبوس برنج روغن‌کشی شده بر فراسنجه‌های خونی (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) در گاو های شیری

Table 6- The Effects of experimental diets with different levels of de-oiled rice bran on blood parameters (Mg / dl) in dairy cows

فراسنجه‌های خونی Blood parameters	تیمارهای آزمایشی Experimental treatments				SEM	P-value
	تیمار 1 T1	تیمار 2 T2	تیمار 3 T3	تیمار 4 T4		
تری گلیسرید Triglyceride	160.26[a]	138.81[b]	111.99[c]	134.47[b]	6.08	0.01
کلسترول Cholesterol	155.00[a]	139.41[b]	120.38[c]	123.58[c]	4.14	0.02
لیپوپروتئین با دانسیته بالا HDL	127.49[a]	134.00[b]	149.98[c]	143.98[c]	7.45	0.04
گلوکز Glucose	45.67[b]	52.11[a]	54.30[a]	52.38[a]	2.95	0.03

[1]تیمارهای آزمایشی شامل: تیمار شاهد و تیمار های حاوی 50، 75 و 95 درصد کنجاله سبوس برنج جایگزین شده ی بخشی از کنجاله سویا در جیره غذایی دام های آزمایشی بود.

[1]Experimental diet include: control diet, no de-oiled rice bran and diet containing de-oiled rice bran with 50, 75 and 90% replacement ratios with soy meal in the diet

فیبرهای جیره کارایی متفاوتی در کاهش جذب کلسترول دارند. اثرات سبوس برنج روی کلسترول تام و LDL به دلیل آن است که سبوس برنج قادر است در داخل روده اسیدهای صفراوی را به خود باند نموده و باعث افزایش دفع آنها از بدن شود (44، 48). این موضوع از یک سو باعث می‌شود که هضم و جذب چربی‌های موجود در مواد غذایی از جمله کلسترول کمتر صورت و از سوی دیگر افزایش دفع اسیدهای صفراوی از راه روده سبب می‌شود که در سلول‌های کبدی مقدار بیشتری کلسترول به اسیدهای صفراوی تبدیل شود تا اسیدهای صفراوی دفع شده جایگزین شوند، لذا نیاز سلول‌های کبدی به کلسترول افزایش پیدا می‌نماید و در نتیجه در این سلول‌ها بیان ژن رسپتور LDL و متعاقب آن تعداد رسپتورهای LDL روی سطح سلول‌های کبدی افزایش می یابد و لیپوپروتئین‌های LDL بیشتری توسط این رسپتورها از خون برداشته شده و وارد سلول‌های کبدی می‌شوند تا تجزیه شوند و کلسترول موجود در آنها در جهت تولید اسیدهای صفراوی مورد استفاده قرار گیرد. به این ترتیب غلظت LDL و کلسترول تام در خون کاهش پیدا می‌کند (44، 45). تأثیر ترکیبات و مشتقات گیاهی در سبوس برنج بر فراسنجه‌های خونی به‌ویژه غلظت گلوکز خون، به دلیل برخورداری آنها از ترکیبات شیمیایی و مواد مؤثرهٔ مختلف بیان شده که نقش تحریک کنندهٔ آنزیم‌های مترشحه دستگاه گوارش به خصوص از سلول‌های مرز

مسواکی روده و غدد ترشح کننده آنزیم‌ها از جمله لوزالمعده را داشته و باعث افزایش سطح آنزیم‌های تجزیه‌کنندهٔ کربوهیدرات‌ها نظیر آمیلاز شده و در نهایت باعث افزایش سطح گلوکز خون می‌شوند. باتوجه به دلایل ذکر شده و احتمالاً به دلیل اینکه سبوس برنج دارای الیاف نامحلول، فیتات و سایر مواد می‌باشد، می‌تواند در تنظیم گلوکز خون موثر باشد (23).

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش، افزودن سبوس برنج چربی گرفته شده به عنوان یک منبع پروتئینی جایگزین بخشی از کنجاله سویا باعث افزایش تولید شیر و کاهش درصد چربی شیر در تیماری که به میزان75 درصد از محتوی کنجاله سویای آن جایگزین شده با سبوس برنج شد. همچنین کاهش کلسترول، تری‌گلیسرید و افزایش سطح HDL خون دام های آزمایشی نیز در تیمار مورد اشاره مشاهده شد. به نظر می‌رسد که سبوس برنج روغن‌کشی شده جایگزین 75 درصد از کنجاله سویا در جیره نسبت به سایر سطوح عملکرد بهتری را در فراسنجه های تولیدی دام های آزمایشی در این مطالعه از خود نشان داد.

منابع

1- Adrizal, P. E. and J. L. Sell. 1996 Utilization of defatted rice bran by broiler chickens. Poultry Science, 75: 1012-1017.
2- Addis, M., A. Cabiddu, G. Pinna, M. A. Decandia, and G. Molle. 2005 Milk and cheese fatty acid composition in sheep fed Mediterranean forages with reference to conjugated Linoleic acid cis9, trans11. Journal of Dairy Science, 88: 3443- 3454.
3- Ambaye, T. D .2009. On-farm evaluation of urea treated rice straw and rice bran supplementation on feed intake, milk yield and composition of Fogera cows, North Western Ethiopia, In partial fulfillment of the requirements for the degree of master of science in Agriculture, Master of Science in Agriculture, Bahir Dar University.
4- Azadmard-Damirchi, S. and P. C. Dutta. 2006. Novel solidphase extraction method to separate 4-desmethyl-, 4-monomethyl-, and 4, 4 –dimethylsterols in vegetable oils. Journal of Chromatography A.1108: 183-87.
5- Belyea, J. L., D. R. Ledoux, A. and Gvcia. 1993 Bioavailability of phosphorus in stabilization and rom rice bran. Animal Science Center, 11469.
6- Bernard, J. K. 1990. Effect of raw or roasted whole soybeans on digestibility of dietary nutrients and milk production of lactating dairy cows. Journal of Dairy Science,73: 3231-3236.
7- Bu, D. P., J. Q. Wang, T. R. Dhiman, and S. J. Liu. 2007. Effectiveness of oils rich in linoleic and linolenic acids to enhance conjugated linoleic acid in milk from dairy cows. Journal Dairy Science, 90: 998-1007.
8- Bauman, D. E. and J. M. Griinari. 2003. Nutritional regulation of milk fat synthesis. Annual Review Nutrition, 23: 203-227.
9- Chaudhary, L. C., A. Sahoo, N. Agarwal, D. N. Kamra, and N. N. Pathak. 2001. Effect of replacing grain with de-oiled rice bran and molasses from the diet of lactating cows. Asian Australasian Journal of Animal Sciences, 14: 646-650.
10- Chilliard, Y., F. Glasser, A. Ferlay, L. Bernard, J. Rouel, and M. Doreau. 2007. Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. European Journal Lipid Science. Technology, 109: 828–855.
11- Chilliard, Y. and A. Ferlay. 2004. Dietary lipids and forages interactions on cow and goat milk fatty acid composition and sensory properties. Representative Nutrition and Development, 44: 467–492.
12- Chantaprasarn, N. and M. Wanapat. 2008. Effects of sunflower oil supplementation in cassava hay based-diets for lactating dairy cows. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 21: 42-50.
13- Criscioni, P. and C. Fernández. 2015. Effect of rice bran as a replacement for oat grain in energy and nitrogen balance, methane emissions, and milk performance of Murciano-Granadina goats. Journal of Dairy Science, 99: 1–11.
14- Deolannkar, R. P. and K. S. Sinngh. 1979. Trypsin inhibitor mineral availability and performance of broiler chickens fed on diets based on rice bran. Animal Feed Sciences and Technology, 4: 133-144.
15- Dhara, R., P. Dhar, and M. Ghosh. 2012. Dietary effects of pure and diacylglycerol-rich rice bran oil on growth pattern and lipid profile of rats. Journal of Oleo Science, 61: 369-75.
16- Dijkstra, J., H. Boer, J. V. Bruchem, M. Bruining, and S. Tamminga. 1993. Absorption of volatile fatty acids from the rumen of lactating dairy cows as influenced by volatile fatty acid concentration, pH and rumen liquid volume. British Journal of Nutrition, 69: 385-396.
17- Feng, S., A. Lock, and P. Garnsworthy. 2004. Technical note: a rapid lipid separation method for determining fatty acid composition of milk. Journal of Dairy Science, 87: 3785-3788.
18- Farrel, D. J. 1994. Utilization of rice bran in diets for domestic fowl and ducklings. World's Poultry Science

Journal, 50: 115-131.
19- Garg, A. K., N. N, Pathak, A. S. R. Anjaneyulu, and V. Lakshmanan. 1986. Utilization of cane molasses as a source of energy in the diet of young pigs. Agricultural Wastes, 17: 225–228.
20- Gadberry, M. S., P. A. Beck, D. W. Kellogg, and S. A. Gunte. 2005. Digestion characteristics and growth of steers fed a corn-grain based supplement compared to de-oiled rice bran plus cottonseed supplement with or without extrusion processing. Animal Feed Science and Technology, 118: 267-277.
21- Gadberry, M. S., P. A. Beck, T. C. Lois, and S. A. Gunter. 2006. Performance of beef cows supplemented with de-oiled rice bran. Journal of Applied Animal Research, 29: 97-104.
22- Ghorbani, G. and H. Khosravinya. 2006. Principles of breeding lactating cows. Translation (Fourth Edition), Isfahan University of Technology Publishing, 78-79 p. (In Persian).
23- Qureshi, A. A., S. A. Sami, and F. A. Khan.2002. Effects of stabilized rice bran, its soluble and fiber fractions on blood glucose levels and serum lipid parameters in humans with diabetes mellitus Types I and II. Journal of Nutrition Biochemistry, 13: 175-187
24- Gillis, M. H., S. K. Duckett, J. S. Sackman, and D. H. Keisler. 2003. Effect of rumen-protected conjugated linoleic acid (CLA) or linoleic acid on leptin and CLA content of bovine adipose depots. Journal Animal Science, 81: 1419-1427.
25- Hegsted, M. and C. S. Kousik. 1994. Rice bran and rice bran oil may lower heart disease risk by decreasing cholesterol synthesis in the body. Louisiana-Agriculture, 37: 16-17.
26- Hundemer, J. K., S. P. Nabar, B. J. Shriver, and L. P. Forman. 1991. Dietary fiber sources lower blood cholesterol in C57BL/6 mice. Journal of Nutrition, 121: 1360-1365.
27- ISO. 2002. Milk Fat-Preparation of Fatty Acid Methyl Esters. ISO 15884. IDF. 182.
28- Jenkins, T. C. 1993. Lipid metabolism in the rumen. Journal of Dairy Science, 76: 3851-3863.
29- Jenkis, D. J., M. Axelsen, C. W. Kendall, L. S. Augustin, V. Vulsa, and U. Smith. 2000. Dietary fiber, lent carbohydrates and the insulin-resistant diseases. British Journal of Nutrition, 83: 57-63.
30- Karimzadeh, S., H. Mohamadzadeh, and M. Baghernia. 2013. Comparative evaluation of wheat bran, raw rice bran and de-oil rice bran on production and composition of lactating hops, the first national conference on modern issues in agriculture, Islamic Azad University, Unit Saveh. (In Persian).
31- Kertich, A. and K. J. Shimes. 1999. Rice Bran: Composition and potential food source. Food Reviews International, 1: 465-495.
32- Lunsin, R., M. Wanapat, C. Yuangklang, and P. Rowlinson. 2012. Effect of rice bran oil supplementation on rumen fermentation, milk yield and milk composition in lactating dairy cows. Livestock Science, 145: 167-173.
33- Malik, N. S., A. K. Ahuja, G. S. Makkar, and V. K. Kakkar. 1989. Effect of high levels of de-oiled rice bran in concentrate mixture on the nutrient utilisation and energy intakes in buffalo calves. Indian Journal of Animal Science, 59: 1420–1424.
34- McCrorie, T. A., E. M. Keaveney, J. M. Wallace, N. Binns, and M. B. Livingstone. 2011. Human health effects of conjugated linoleic acid from milk and supplements. Nutrition Research Reviews, 24: 206-227.
35- NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. National Research Council, National Academies Press, Washington, DC.
36- Palmquist, D. L. and A. D. Beaulieu. 1993. Feed and animal factors influencing milk fat composition. Journal of Dairy Science, 76: 1753-1771.
37- Park, J. K. and C. H. Kim. 2010. Effects of organic feed containing rice bran and soybean hull on milk production of mid-lactation dairy goats. Korean Journal of Organic Agriculture, 18: 599–612.
38- Peng, Y. S., M. A. Brown, J. P. Wuand, and Z. Liu. 2010. Different oilseed supplements alter fatty acid composition of different adipose tissues of adult ewes. Meat Science, 85: 542–549.
39- Petit, H. V., C. Germiquet, and D. Lebel. 2004. Effect of feeding whole unprocessed sunflower seeds and flaxseed on milk production, milk composition, and prostaglandin secretion in dairy cows. Journal of Dairy Science, 87: 3889–3898.
40- Park, J. K., E. G. Kwon, and C. H. Kim. 2013. Effects of increasing supplementation levels of rice bran on milk production and fatty acid composition of milk in Saanen dairy goats. Animal Production Science, 53: 413–418.
41- Ranjhan, S. K. 1990. Agro-industrial By-products and Non-conventional Feeds for Livestock Feeding. pp: 118–21. Indian Council of Agricultural Research. Pusa, New Delhi, India.
42- Reddy, G. V. N., M. R. Reddy, and K. K. Reddy. 1988. Sunflower straw based complete feed for crossbred cows. Indian Journal Animal Nutrition, 5: 322–324.
43- Roche, J. R., J. M. Lee, K. A. Macdonald, and D. P. Berry. 2007. Relationships among body condition score, body weight and milk production variables in pasture-based dairy cows. Journal of Dairy Science, 90: 3802-3815.

44- Rutter, L. M. and R. D. Randel. 1984. Postpartum Nutrient Intake and Body Condition Effect on Pituitary Function and Onset of Estrus in Beef Cattle. Journal of Animal Science, 58: 265-274.
45- Sahoo A, L., C. Chaudhary, D. N. Neeta Agarwal, Kamra, T. Dutt, and N. N. Pathak. 2000. Effect of replacing cereal grain in concentrate with wheat bran on the performance of lactating Bos indius Bos taurus cows fed green fodder ad libitum in the Northern plains of Indian. Asian-Australasian Journal of Animal Science, 13: 1699-1707.
46- Sahraei, H. R. 2005. The effect of bean processing on digestibility of nitrogen and metabolizable energy in adult males and performance of broiler chicks. Master's Thesis. Razi University of Kermanshah. (In Persian).
47- Singh, P., A. K. Garg, R. Malik, and D. K. Agrawal. 1999. Effect of replacing barley grain with wheat bran on intake and utilisation of nutrients in adult sheep. Small Ruminant Research, 31: 215–219.
48- Singh, A. S., V. K. Jain, P. Singh, and N. N. Pathak. 2002. Effect of feeding wheat bran on feed intake and nutrient utilization in crossbred cows. Indian Journal Animal Science, 70: 1258–1260.
49- Shangfun, W. and B. Huangchiang. 2001. Dephytinisation of rice bran and manufacturing a new food ingredient. Journal Science Food Agriculture, 81: 1419-1425.
50- Stein, E. A. and G. L. Myers. 1994. Lipids, lipoproteins and apoproteins. In: Burtis CA, Ashwood ER (eds). Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 2nd ed. Philadelphia: W.B.Saunders, 1054-1087.
51- Stockdale, C. R. 2001. Body condition at calving and the performance of dairy cows in early lactation under Australian conditions: a review. Australian Journal of Experimental Agriculture, 41: 823-839.
52- Sundaram, R. N. S., A. R. Bhattacharyya, H. K. Malviya, and N. S. Nair. 1987. Low cost economic rations for dairy cattle suitable for costal rice growing areas. Livestock Advisor, 12: 21–24.
53- Tahir, M. I., T. N. Khalique, J. A. Bahatti. 2002. Comparative Evaluation of maize bran, Wheat bran and rice bran on Milk production of Holstein Friesian cattle. Agriculture and Biology, 156.8530.
54- Truswell, A. S. 1999. Dietary fiber and blood lipids. Current Opinion in Lipidology, 6: 14-19.
55- Walestra, P. J. T., M. Wouters, and T. J. Geuter. 1999. Dairy technology: principles of milk properties and processes. Dairy Science and Technology, CRC press.
56- Wang, Y., H. S. Xin, Y. Z. Li, W. W. Zhang, K. Xia, Z. B. Wang, M. Li, Y. G. Zhang. 2012. The effects of different processing methods on the estimated nutritional value of rice bran according to NRC-2001 Model or DVE/OEB System. Journal of Animal and Feed Sciences, 21: 503-520.
57- Wildman, E. E., G. M. Jones, P. E. Wagner, R. L. Boman, J. R. Troutt, and T. N. Lesch. 1982. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. Journal of Dairy Science, 65: 495–501.
58- Weiss, W. P. 1995. Full Lactation Response of Cows Fed Diets with Different Sources and Amounts of Fiber and Ruminal degradable Protein. Journal of Dairy Science, 78: 1802-1814.
59- Yoshikawa, T., H. Shimano, N. Yahagi, T. Ide, T. Matsuzaka, and M. Nakakuki. 2002. Polyunsaturated fatty acids suppress sterol regulatory element-binding protein 1c premotor activity by inhibition of liver X receptor (LXR) binding to LXR response elements. Journal of Biological Chemistry, 277: 1705-1711.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 11, No. 3, Fall 2019, p. 293-306

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد 11، شماره 3، پاییز 1398، ص. 306-293

The Effect of Different Levels of De-oiled Rice Bran Replacement to Soybean Meal on Milk Production and Composition, Body Condition Score and Some Blood Parameters in Dairy Cows

Y. Chashnidel[1*], S. Shokrolahi [2], M. Yousefelahi [3], A. Soleymani [4], M. Bahari [5]

Received: 24-02-2018
Accepted: 21-10-2018

Introduction The use of agricultural products that are often less costly has long been considered by researchers, and due to some problems with the direct use of these products in animal nutrition, their processing seems to be necessary in a variety of ways. In the meantime, by-products derived from cereals, such as wheat bran and rice bran, are especially important due to their high production and low prices. Rice bran can be one of the world's largest cereal processing by-products. Considering the significant amount of rice bran production in the northern provinces of Iran, its low price and the possibility of replacing it as part of the ration and, on the other hand, due to the presence of unsaturated oil, it seems that its lubrication It will probably increase the maintenance time and improve its nutritional value. The main problem is the use of rice bran, phosphate phytate, oil and high silica. Considering the significant amount of rice bran production in the northern provinces of the country, its low price and the possibility of replacing it as part of the ration and, on the other hand, due to the presence of unsaturated oil, it seems that its lubrication It will probably increase the maintenance time and improve its nutritional value. The objective of this study was to evaluate the different levels of de-oiled rice bran replacement to soybean meal on milk production and composition, the profile of fatty acids in milk, body condition score and some blood parameters of dairy cows.

Material and methods An experiment was conducted using 12 of Simmental dairy cows with a mean weight of 630±27 kg, a mean milk yield of 35±1.7 liters per day and an average of 109±17 days of lactation in a completely randomized design with four treatments and three repetitions. The experimental treatments were included control diets without de-oiled rice bran and diets containing de-oiled rice bran replacing 50, 75 and 90% to soybean meal. The diet used was based on the table of nutrient requirements of NRC, (2001) and the diet was prepared by the NRC, (2001) software. The traits studied in this experiment included milk composition and production, body condition score, profile of milk fatty acids and some blood serum parameters of dairy cows. The oil-rice bran used in this experiment was prepared from Mazand factory, located in Mazandaran province, Babolsar city. The data were collected and experimental design was a completely randomized design with four treatments and three replicates using 12 heads of dairy cows with repeat measurement and using the GLM and SAS software (9.1).

Results and discussion The experimental results showed that the experimental diets had a significant effect on the composition and production of milk, so that the production of milk in a treatment containing de-oiled rice bran replaced with 75% soy meal was more than other experimental treatments. The percentage of milk protein in a treatment containing de-oiled rice bran replaced with 50% soy meal was more than other experimental treatments. Also, the results showed that the highest percentage of milk fat in the control treatment and the lowest milk fat in the treatment of de-oiled rice bran was replaced with 75% soybean meal, which had a significant difference with other treatments. There was no significant difference in the number of somatic cells between treatments. Body condition scores were no significantly affected by experimental diets. The effect of treatments on milk fatty acids was not significant. Also, the addition of de-oiled rice bran had a significant effect on blood parameters, so that by increasing the level of rice bran in the diet, up to 75% of the soybean meal replaces a significant decrease in blood levels other than glucose. In addition, the control treatment had the highest levels of triglyceride and cholesterol and the amount of HDL in treatment containing de-oiled rice bran

1-Associate Prof, Dept. of Animal Sciences, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran.
2-MSC Animal Nutrition, Islamic Azad University Kashmar Branch, Kashmar, Iran.
3- Associate Prof, Dept. of Animal Sciences, Zabol University, Zabol, Iran.
4- Associate Prof, Dept. of Animal Sciences, Islamic Azad University Kashmar Branch, Kashmar, Iran.
5- PhD of Animal Sciences, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran.
(*-Corresponding Author Email: ychashnidel2002@yahoo.com)

replaced with 75% soy meal was significantly higher than other treatments.

Conclusion According to the results of this experiment, the use of 75% of de-oiled rice bran replacement to soybean meal in the diet, increased milk yield and reduced fat percentage in dairy cow compared to control treatment. Also, the reduction of cholesterol, triglycerides and HDL levels in dairy cows were observed treatment containing de-oiled rice bran replaced with 75% soy meal. It seems that the use of 75% of de-oiled rice bran replacement to soybean meal in the diet, showed better performance than the other levels in the production factors of dairy cows in this study.

Key words: Blood parameters, Dairy cow, Milk fatty acids, Performance, Rice bran

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 11, No. 3, Fall 2019, p. 307-317

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد 11، شماره 3، پاییز 1398، ص. 317-307

تاثیر اشکال مختلف سلنیوم بر فراسنجه های تولید گاز، تخمیر شکمبه و جمعیت پروتوزوآی شکمبه

سمیرا دهقانی[1]، اکبر تقی زاده[2*]، حمید محمدزاده[3]

تاریخ دریافت : 1396/08/12
تاریخ پذیرش: 1397/01/22

چکیده

تحقیق حاضر به منظور ارزیابی اثر اشکال مختلف سلنیوم بر تولید گاز، تخمیر شکمبه و جمعیت پروتوزوآی شکمبه گوسفندان قزل گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل 1. کنسانتره بدون مکمل سلنیوم 2. کنسانتره +0/3 ppm نانوسلنیوم 3. کنسانتره + 0/3 ppm سلنیوم آلی و 4. کنسانتره + 0/3 ppm سلنیوم معدنی بودند. در روش تولیدگاز 300 میلی‌گرم از هر نمونه در ساعات 2، 4، 6، 8، 12، 16، 24، 36، 48، 72 و 96 انکوباسیون گردید. به منظور بررسی تاثیر اشکال مختلف سلنیوم بر اکوسیستم شکمبه، فاکتورهای pH، اسیدهای‌چرب فرار، نیتروژن آمونیاکی و جمعیت پروتوزوآیی مورد بررسی قرار گرفت. از ساعت 36 انکوباسیون به بعد میزان تولید گاز تیمارهای حاوی سلنیوم به طور معنی داری بیشتر از تیمار کنترل بود، اما تفاوت معنی داری از نظر تولید گاز بین این 3 تیمار وجود نداشت. پتانسیل تولید گاز در تیمارهای حاوی سلنیوم از تیمار کنترل بیشتر بوده (به ترتیب 201/9، 344/0، 321/7 و 319/8 میلی لیتر در تیمارهای شاهد، سلنیوم نانو، آلی و معدنی) ولی تفاوت معنی داری بین تیمارهای حاوی انواع مختلف سلنیوم وجود نداشت. تفاوت معنی‌داری بین تیمارها از نظر pH شکمبه وجود نداشت. تیمار نانو به طور معنی‌داری موجب افزایش غلظت اسیدهای چرب فرار نسبت به تیمارهای آلی و معدنی شد (به ترتیب 109/83، 98/00 و 89/83 میلی مول بر لیتر در تیمارهای سلنیوم نانو، آلی و معدنی). تفاوت معنی‌داری بین تیمارها از نظر میزان نیتروژن آمونیاکی شکمبه وجود نداشت. تیمار سلنیوم آلی موجب افزایش معنی‌دار تعداد کل پروتووزآ نسبت به تیمار سلنیوم معدنی و نانو سلنیوم شد. نتایج تحقیق نشان داد که افزودن مکمل سلنیوم خصوصا به شکل نانو نسبت به فرم رایج معدنی آن، احتمالا از طریق بهبود فرآیند تخمیر در محیط شکمبه، موجب افزایش پتانسیل تولید گاز شد.

واژه‌های کلیدی: تولید گاز، سلنیوم، فراسنجه‌های تخمیر شکمبه، گوسفند، نانو

مقدمه

تولید بهینه و تداوم سلامتی در دام و طیور، نیازمند تامین مواد مغذی ضروری به شکل قابل دسترس و در مقادیر کافی در بدن میباشد. بیشتر خوراک هایی که عموما در تغذیه دام استفاده می‌شوند از نظر برخی مواد مغذی دچار کمبود بوده و نیاز به افزودن مواد مغذی مورد نیاز به جیره دام را پدید می آورند. با توجه به اهمیت و نقش مواد معدنی در تغذیه دام ها، شناخت وضعیت عناصر معدنی در مواد غذایی امری ضروری به نظر می رسد. در بین مکمل‌های خوراکی، مواد معدنی کم مصرف و پرمصرف از اهمیت بالایی برخوردار میباشند. در میان عناصر کمیاب و کم مصرف معدنی، عنصر سلنیوم از اهمیت خاصی برخوردار است که برای سلامتی، ایمنی و عملکرد تولیدی بهینه حیوانات ضروری است (3 و 26). ابتدا تصور می‌شد که سلنیوم یک عنصر سمی بوده و بیشتر تحقیقات نیز بر مبنای سمیت آن بود. بعدها مشخص شد که این عنصر جزئی از یک آنزیم ضروری به نام گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) است که در تجزیه و دفع مواد سمی به کبد کمک می‌کند (26). کمبود سلنیوم میتواند تولید را کاهش داده و سلامت دام را به مخاطره اندازد (24).

اشکال معدنی معمول سلنیوم عبارتند از سلنیت سدیم (Na_2SeO_3) و سلنات سدیم (Na_2SeO_4)، در حالی که سلنومتیونین (SeMet) و سلنوسیستئین (SeCys) دو شکل آلی این عنصر را تشکیل می دهند. اندازه ریز ذرات مواد معدنی باعث تسریع در جذب و ورود آن به سلولهای بدن شده و به این ترتیب زیست فراهمی این

1- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشگاه تبریز
2- استاد گروه علوم دامی دانشگاه تبریز (نویسنده مسئول)
3- استادیار گروه علوم دامی دانشگاه تبریز
(* - نویسنده مسئول: ataghius@yahoo.com)
Doi:10.22067/ijasr.v11i3.68454

مواد معدنی بالاتر خواهد بود (14 و 25). لذا ترکیبات آلی و نانوسلنیوم نسبت به معدنی جذب و زیست فرآهمی بیشتری داشته و در بین اشکال معدنی نیز فرم سلنات نیز به سلنیت به میزان بیشتری جذب می‌شود (14 و 25). سلنیوم آلی و نانوسلنیوم از طریق انتقال فعال، سلنیت از طریق انتشار غیرفعال و سلنات به واسطه ناقل‌های سدیم به همراه گوگرد جذب می‌شوند. سلنیوم دارای اثر حفاظتی بر پروتوزوآهای شکمبه‌ای است و موجب افزایش بقا و فعالیت آنها می‌شود (9). نظیراوغلو و آکساکول (20 و 21) افزایش جمعیت پروتوزوآهای مژکدار موجود در شکمبه را با افزودن سلنیوم به جیره گزارش کردند. وانگ و همکاران (28) کاهش نیتروژن آمونیاکی را با استفاده از مخمر سلنیومی در گاوهای شیری گزارش کردند. ایشان همچنین بهینه رشد میکروبی و بیشترین مقدار تولید اسیدهای چرب فرار در گاوهای شیری را با افزودن مقدار 0/3 پی‌پی‌ام سلنیوم به جیره مشاهده نمودند (6).

زون و همکاران (29)، گزارش نمودند که میانگین مقادیر pH شکمبه و نسبت استات به پروپیونات در گوسفندان تغذیه شده با نانو سلنیوم در مقایسه با حیوانات دریافت کننده سلنیوم آلی و جیره شاهد پایین‌تر بود.

بیماری عضله سفید[1] (WMD) اولین ناهنجاری شناخته شده مرتبط با کمبود سلنیوم در دام می‌باشد که باعث مرگ نوزادان تازه متولد شده و آسیب به روند تولید در دام‌های جوان و بالغ به ویژه در نشخوارکنندگان می‌شود (1).

دو عامل مهم شناخت و ارزیابی مواد خوراکی و نیز تعیین نیازمندیهای غذایی دامها روی تولید بیشتر و اقتصادی مؤثر هستند. قابلیت هضم یک ماده غذایی یا جیره غذایی با روشهای مستقیم استفاده از حیوان زنده (*in vivo*) و روش آزمایشگاهی (*in vitro*) قابل اندازه‌گیری است. ارزیابی میزان مصرف خوراک و قابلیت هضم خوراک با روش استفاده از حیوان زنده بسیار وقت‌گیر، دشوار، پرهزینه، نیاز به مقدار زیاد خوراک و غیر مناسب جهت ارزیابی برای انواع زیاد خوراک می‌باشد. ارتباط نزدیک بین تخمیر شکمبه‌ای با تولید گاز از قبل گزارش شده است (9). با این حال اگر خوراکی در شرایط درون تنی آزمایش نشود، داده های برون تنی آن به تنهایی ارزش کاربردی نخواهد داشت. روش تولید گاز به خاطر سادگی روش کار، کمتر بودن عوامل ایجاد کننده خطا، نیاز به تعداد کمتر نمونه و همچنین سرعت عمل و تولید اطلاعات اضافی می‌تواند تکمیل کننده و جایگزین مناسبی برای روش *in vivo* باشد (9). تطابق مناسب حجم گاز تولیدی با فراسنجه های حاصل از مطالعات in situ و in vivo حاکی از آن است که تولید گاز بطور دقیق تخمیر ماده خوراکی را منعکس می کند. حجم گاز تولیدی که منعکس کننده تخمیر مواد خوراکی به اسیدهای چرب فرار است، می تواند برآوردی از قابلیت هضم ظاهری باشد (4) و بطور دقیقی با مقدار و نسبت استات و بوتیرات نیز مرتبط می باشد. بنابراین نسبت اسیدهای چرب فرار هم روی حجم گاز تولیدی اثر می گذارد، زیرا فقط تخمیر ماده خوراکی به استات و بوتیرات است که تولید گاز کربنیک و در نتیجه گاز متان می کند و بخش اعظم حجم گاز تولیدی را این گازها شامل می شوند که بطور مستقیم از تخمیر نشأت میگیرند. تخمیر مواد سریع التخمیر احتمالاً منجر به تولید نسبت بیشتری از پروپیونات می شود. این امر می تواند باعث کاهش در تولید گاز به ازاء هر واحد اسید چرب فرار تولید شده منجر گردد (18). تحقیق حاضر به منظور ارزیابی اثر اشکال مختلف سلنیوم بر خصوصیات هضمی کنسانتره، با استفاده از روش تولید گاز انجام گرفت.

مواد و روش ها

حیوان و محل آزمایش

اجرای مراحل مختلف مزرعه ای و آزمایشگاهی به ترتیب در واحد گوسفندداری ایستگاه تحقیقات کشاورزی خلعت پوشان دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز و آزمایشگاه تغذیه دام پیشرفته واقع در ساختمان تحصیلات تکمیلی دانشگاه تبریز صورت گرفت. جهت انجام آزمایش تولید گاز و اندازه گیری پارامترهای تخمیری، از چهار راس گوسفند نر قزل (با وزن 4/8±43/0 کیلوگرم) فیستوله گذاری شده استفاده شد. گوسفندها به مدت یک ماه پس از جراحی مورد مراقبت قرار گرفتند تا شرایط فیزیولوژیکی طبیعی خود را بدست آورند. هر یک از این گوسفندها در باکس انفرادی نگهداری شده و در طی مدت آزمایش جیره حاوی علوفه و کنسانتره به نسبت 40 :60 دو بار در روز به طوری که قادر به تامین احتیاجات نگهداری باشند دریافت میکردند. تیمارهای آزمایشی شامل 1. کنسانتره بدون مکمل سلنیوم 2. کنسانتره +0/3 ppm سلنیوم از نوع نانو سلنیوم 3. کنسانتره + 0/3 ppm سلنیوم از نوع سلنومتیونین و 4. کنسانتره + 0/3 ppm سلنیوم از نوع سلنیت سدیم بودند. جهت سنتز نانو ذرات سلنیوم از روش گرمایی چن و همکاران (7) استفاده شد. سلنومتیونین نیز با نام تجاری سایتوپلکس سلنیوم تهیه شد. تیمارهای آزمایشی از نظر نوع انرژی و پروتئین و محتوی NDF علوفه‌ای مشابه بوده و تنها اختلاف آنها در نوع سلنیوم مورد استفاده در آن‌ها بود.

آنالیز شیمیایی

تجزیه تقریبی مواد غذایی شامل میزان ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام و خاکستر خام بر اساس روش‌هایAOAC (2) و دیواره سلولی، دیواره سلولی بدون همی‌سلولز با روش ون‌سوست و همکاران

[1] White muscle disease

(27) اندازه گیری و تعیین شد.

اندازه گیری تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی

به منظور اندازه گیری تولید گاز از روش فدوراک و هرودی (7) استفاده شد. ابتدا مواد خوراکی توسط آسیاب با قطر منافذ الک 2 میلی متری بصورت یکنواخت آسیاب شدند. مقدار 300 میلی گرم از هر ماده خوراکی آسیاب شده با دقت توزین و به داخل شیشه های سرم استریل 50 میلی لیتری منتقل گردید. برای هر تیمار در هر ساعت 3 تکرار (ویال) در نظر گرفته شد. مایع شکمبه مورد نیاز در آزمایش تولید گاز، 2 ساعت بعد از وعده خوراک صبحگاهی، از 4 رأس گوسفند فیستولادار عادت دهی شده به مدت یک ماه با جیره غذایی حاوی اشکال مختلف سلنیوم (نانو، آلی، معدنی و بدون مکمل سلنیوم) که در سطح نگهداری شامل 40 درصد مواد غذایی متراکم و 60 درصد علوفه، تغذیه شده بودند، توسط پارچه توری چهار لایه جمع آوری شده و در داخل فلاسک حاوی گاز دی اکسید کربن، سریعاً به آزمایشگاه منتقل شد. قبل از انتقال مایع شکمبه به داخل شیشه های سرم، با بافر تهیه شده به روش مکدوگال (16) به نسبت 1 به 2 (یک قسمت مایع شکمبه و دو قسمت بافر) مخلوط شد. شیشه های سرم قبل از انتقال مایع شکمبه و بافر، جهت جلوگیری از شوک حرارتی، به مدت نیم ساعت در دمای 39 درجه سانتیگراد گرم شده بودند. در مرحله انتقال بافر و مایع شکمبه از ارلن به شیشه های سرم، جریان مداوم گاز دی اکسید کربن به ارلن که بر روی هیتر 39 درجه سانتیگراد قرار داشت، تزریق می گردید. در هر شیشه حاوی تیمار آزمایش مقدار 20 میلی لیتر مخلوط مایع شکمبه و بافر افزوده شد و بعد از بی هوازی نمودن داخل شیشه با تزریق گاز دی اکسید کربن، درب شیشه ها توسط درپوش لاستیکی و پرس فلزی، بطور محکم بسته شد. به منظور تصحیح گاز تولیدی با منشاء مایع شکمبه تعداد 3 عدد شیشه بدون ماده غذایی و فقط دارای مایع شکمبه در نظر گرفته شدند. کل شیشه ها جهت اندازه گیری گاز تولیدی به داخل دستگاه انکوباتور شیکر با 120 دور در دقیقه و دمای 39 درجه سانتیگراد، منتقل شده و عمل قرائت و ثبت میزان گاز تولیدی ناشی از تخمیر مواد غذایی در ساعات 2، 4، 6، 8، 12، 16، 24، 36، 48، 72 و 96 ساعت بعد از عمل انکوباسیون انجام گرفت.

برآورد پارامترهای تخمینی تغذیه‌ای با روش تولید گاز

به گزارش گتاچیو و همکاران (9) میزان انرژی قابل متابولیسمی هر کدام از خوراکها با استفاده از میزان تولید گاز در آزمایشگاه و ترکیبات شیمیایی هرکدام می‌توان بدست آورد.

انرژی قابل متابولیسم (ME)، انرژی ویژه شیردهی (NE_L) و درصد ماده آلی قابل هضم (DOM) با استفاده از معادلات ارائه شده توسط منکی و همکاران (17) و منکی و استنگیس (18) و میزان اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (SCFA) توسط معادله گتاچیو و همکاران (9) محاسبه شد.

$$ME\ (MJ/kg\ DM) = 1/06+0/1570\ GP + 0/084\ CP +0/220\ CF-0/081\ CA$$

$$NEL\ (MJ/kg\ DM)= -0/36 +0/1149\ GP +0/0054CP +0/0139\ CF -0/0054CA$$

$$DOM\ (\%\ DM) = 9/00 + 0/9991\ GP + 0/0595\ CP + 0/0181\ CA$$

$$SCFA\ (m\ mol/200\ mgDM) = 0/0222GP - 0/00425$$

که در این روابط GP تولید گاز (میلی لیتر در 200 میلی گرم ماده خشک) در 24 ساعت؛ CP، CF و CA به ترتیب پروتئین خام، چربی خام و خاکستر (درصد ماده خشک) می‌باشند. همچنین ME، NE_L، SCFA و DOM نیز به ترتیب نشان دهنده انرژی قابل متابولیسم (MJ/kg DM)، انرژی ویژه شیردهی (MJ/kg DM)، اسیدهای چرب فرار کوتاه زنجیر (mMol/200mgD) و ماده آلی قابل هضم (درصد) هستند.

بررسی فاکتورهای pH ، اسید های چرب فرار و نیتروژن آمونیاکی شکمبه

جهت بررسی pH، اسیدهای چرب فرار و نیتروژن آمونیاکی شکمبه، مایع شکمبه 3 ساعت پس از خوراکدهی از طریق فیستولا جمع‌آوری و بلافاصله با توری 4 لایه صاف گردید. جهت تعیینpH، بلافاصله پس از گرفتن نمونه، با استفاده از pH متر سیار که در محل کالیبره شده بود، استفاده شد. پس از تعیین pH، به منظور توقف اعمال هضمی و تخمیر، به ازای هر میلی‌لیتر از مایع شکمبه 20 میکرولیتر اسید سولفوریک 4 درصد به آن افزوده شد و به منظور آنالیز اسیدهای چرب فرار و نیتروژن آمونیاکی نمونه‌ها در دمای 20- درجه سانتی گراد تا زمان اندازه‌گیری نگهداری شد.

جهت اندازه‌گیری کل اسیدهای چرب‌فرار از روش مارخام (15)، از دستگاهMARKHAM STILL و در دو مرحله تقطیر و تیتراسیون استفاده شد. در مرحله تقطیر 5 میلی لیتر مایع شکمبه جمع آوری شده همراه با 10 میلی لیتر سولفات منیزیوم اشباع شده در اسید سولفوریک غلیظ ($MgSO_4$+H_2SO_4) به دستگاه تقطیر تزریق و گازهای حاصل (حدود 50 میلی لیتر) جمع آوری شده و بلافاصله با افزودن معرف فنل فتالئین با سود 0/05 نرمال تیتراسیون صورت گرفت (15). میلی لیتر اسیدچرب فرار در یک لیتر مایع شکمبه مساوی عدد حاصل از تیتراسیون (میلی لیتر سود مصرفی) ضربدر 10 بود.

جهت تعیین میزان نیتروژن آمونیاکی شکمبه نیز از روش برودریک و کنگ (5) استفاده شد. بدین منظور 0/05 گرم نمونه یا محلول استاندارد را با 2/5 میلی‌لیتر فنول و 2 میلی‌لیتر محلول

هیپوکلریت ترکیب و در دمای 95 درجه سانتی‌گراد برای 5 دقیقه نگهداری شده و پس از خنک شدن، با اسپکتوفتومتر، در طول موج 630 نانومتر اعداد خوانده شد.

جدول1- اقلام خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره گوسفندان فیستوله شده

Table 1- Ingredients and chemical composition of rumen fistulated sheep

اجزای جیره آزمایشی Ingredients	درصد از ماده خشک جیره % Dry Matter
یونجه Alfalfa Hay	50
کاه گندم Wheat Straw	10
ذرت Corn Grain	15
جو Barley Grain	5
کنجاله پنبه دانه Cottonseed Meal	2
سبوس گندم Wheat Bran	17
مکمل ویتامین Vitamin Premix	0.25
مکمل معدنی Mineral Premix	0.25
نمک Salt	0.5
ترکیب شیمیایی جیره Chemical Composition	
ماده خشک (درصد) Dry Matter (%)	52
پروتئین خام (درصد از ماده خشک) Crude Protein (%DM)	16
دیواره سلولی (درصد از ماده خشک) Neutral Detergent Fiber (%DM)	36
دیواره عاری از همی سلولز (درصد از ماده خشک) Acid Detergent Fiber (%DM)	24
عصاره اتری (درصد از ماده خشک) Ether Extract (%DM)	6

شمارش پروتوزوآ

پس از تهیه نمونه مایع شکمبه و صاف کردن آن، با محلول فرمالین (100 میلی‌لیتر فرمالدهید 40٪ و 8/5 گرم نمک مرک را با آب مقطر به حجم 1 لیتر رسانده) به نسبت 1 به 5 (1 قسمت مایع شکمبه، 5 قسمت فرمالین) فیکس و در دمای یخچال نگهداری شدند. جهت شمارش و شناسایی پروتوزوآ از روش ایوان و همکاران (12) و کتاب اوگیموتو و ایمای (22) استفاده شد. برای هر نمونه 3 بار شمارش انجام گرفت و در صورتی که بین تعداد پروتوزوآهای شمارش شده اختلاف بالایی وجود داشت، شمارش تکرار می‌شد.

آنالیز آماری

کلیه داده ها بصورت طرح مربع لاتین 4×4 آنالیز شدند.

نتایج و بحث

تولید گاز

نتایج مربوط به تولید گاز در تیمارهای مختلف به همراه مشخصه های تولید گاز در جدول 2 ارائه شده است. نتایج ارائه شده در جدول نشان می دهد که تا ساعت 2 انکوباسیون میزان گاز تولیدی در تیمار

سلنیوم معدنی بیش از تیمار سلنیوم نانو و آلی بود (P<0/05). این امر نشان می دهد که نوع نانو سلنیوم برای فعال شدن در شکمبه نیاز به زمان بیشتری از نوع معدنی و آلی دارد که این امر بدلیل ساختار خاص سلنیوم و ترکیبات همراه آن برمی گردد (29).

در طول تمام ساعات انکوباسیون میزان تولید گاز به صورت عددی در تیمار نانو از تیمار آلی بیشتر بوده و در تیمار آلی نیز از تیمار معدنی بالاتر بود. اما با این حال، این تفاوتها فقط در ساعات 4 الی 8 انکوباسیون معنی دار بود (P<0/05). از ساعت 36 انکوباسیون به بعد میزان تولید گاز تیمار نانو، سلنومتیونین و معدنی به طور معنی داری بیشتر از تیمار کنترل بود، اما تفاوت معنی داری از نظر تولید گاز بین این 3 تیمار حاوی سلنیوم وجود نداشت. ارتباط نزدیک بین تخمیر شکمبه‌ای با تولید گاز از قبل گزارش شده است (9). حجم گاز تولیدی که منعکس کننده تخمیر مواد خوراکی به اسیدهای چرب فرار است، می تواند برآوردی از قابلیت هضم ظاهری باشد (4). افزودن سلنیوم به جیره غذایی دام میتواند متابولیسم و عملکرد شکمبه، بویژه تخمیر میکروبی در آن را تحت تاثیر قرار دهد (13). وانگ و همکاران (28) افزایش غلظت اسید چرب فرار تولیدی در محیط شکمبه را شاهدی از افزایش تخمیر شکمبه‌ای دام با مصرف مکمل سلنیومی دانستند. حیدر اوغلو و همکاران (10) گزارش کردند که فراهمی سلنیوم در شکمبه می‌تواند استفاده از آن توسط میکروب‌های شکمبه را تسهیل کرده و از این طریق موجب بهبود فرآیند تخمیر در محیط شکمبه شود. همانگونه که داده های تولید گاز در ساعات مختلف انکوباسیون نشان داد، پتانسیل تولید گاز (A) نیز در تیمارهای حاوی سلنیوم از تیمار کنترل یا شاهد بیشتر بوده (P<0/05) ولی تفاوت معنی داری بین تیمارهای حاوی انواع مختلف سلنیوم وجود نداشت. با این حال از لحاظ عددی پتانسیل تولید گاز و نرخ تولید گاز در تیمار نانو از تیمار آلی و در تیمار آلی از تیمار معدنی بالاتر بود.

جدول2- میزان تولید گاز (میلی لیتر به ازای گرم ماده خشک) و مشخصه های تولید گاز تیمارهای مختلف در ساعات مختلف انکوباسیون

Table 2- The gas production volume (mL/g DM) and gas production parameters of experimental treatments

مورد[1] Item[1]	منابع سلنیوم Source of Selenium				SEM	مقایسه بین تیمارها Comparisons					
	کنترل Control	نانو Nano-Se	آلی Organic-Se	معدنی Inorganic-Se		کنترل با نانو Control vs. Nano-Se	کنترل با آلی Control vs. Organic-Se	کنترل با معدنی Control vs. Inorganic-Se	نانو باآلی Nano-Se vs. Organic-Se	نانو بامعدنی Nano-Se vs. Inorganic-Se	آلی با معدنی Organic-Se vs. Inorganic-Se
2h	53.9	37.7	32.7	51.3	3.44	<0.01	<0.01	0.61	0.34	0.02	<0.01
4h	108.0	104.9	85.9	73.0	4.16	0.62	<0.01	<0.01	0.01	<0.01	0.06
6h	151.0	145.5	120.2	108.5	4.48	0.42	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.10
8h	182.9	168.9	144.0	122.4	6.69	0.18	<0.01	<0.01	0.03	<0.01	0.05
12h	188.2	195.0	177.3	155.1	8.76	0.6	0.40	0.03	0.19	0.01	0.11
16h	194.6	216.5	201.7	181. 7	9.74	0.15	0.62	0.37	0.32	0.04	0.18
24h	198.3	254.3	239.6	220.4	11.14	<0.01	0.03	0.20	0.38	0.06	0.26
36h	201.3	299.0	276.4	271.6	10.47	<0.01	<0.01	<0.01	0.17	0.10	0.75
48h	202.3	323.4	299.4	288.0	11.20	<0.01	<0.01	<0.01	0.17	0.06	0.49
72h	203.6	342.6	320.0	304.8	11.74	<0.01	<0.01	<0.01	0.21	0.05	0.38
96h	205.1	352.3	329.9	320.4	11.69	<0.01	<0.01	<0.01	0.21	0.09	0.58
مشخصه های تولید گاز Gas Production Parameters											
A [2]	201.9	344.0	321.7	319.8	11.38	<0.01	<0.01	<0.01	0.20	0.17	0.91
C [3]	0.274	0.060	0.056	0.048	0.010	<0.01	<0.01	<0.01	0.96	0.40	0.42

[1] برای هر ساعت انکوباسیون 3 تکرار از هر نمونه در آزمون تولید گاز استفاده شد.

[2] A: پتانسیل تولید گاز (میلی لیتر به ازای گرم ماده خشک) [3] C: نرخ تولید گاز (میلی لیتر در ساعت)

[1] Three samples were analysed in gas production for each incubation hour.

[2] A: Potential of gas production (ml/g DM), [3] C: Gas production rate (ml/h).

پارامترهای تخمینی تولید گاز

مقادیر برآورد شده برای انرژی قابل متابولیسم (ME، مگاژول در کیلوگرم ماده خشک)، انرژی ویژه شیردهی (NEL، مگاژول در کیلوگرم ماده خشک)، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (SCFA، میلی مول)، ماده آلی قابل هضم (DOM، ٪ ماده خشک) از تولید گاز اشکال مختلف سلنیوم در جدول 3 ارائه شده است. تیمار نانو سلنیوم

باعث افزایش (P <0/05) پارامترهای مذکور گردیده است ولی تفاوت معنی داری بین تیمارهای حاوی سلنیوم مشاهده نگردید. در مورد تیمار نانو سلنیوم که منجر به افزایش برآورد پارامترهای تغذیه ای شده است می تواند به علت افزایش تولید گاز در زمان 24 ساعت بعد از انکوباسیون باشد. همبستگی مثبتی بین ME و NE_L محاسبه شده در تولید گاز با قابلیت دسترسی و قابلیت هضم ترکیبات خوراک بویژه کربوهیدرات مطرح شده است (23). برآورد بالای SCFA در تیمار نانو بعلت تولید بالای گاز در ساعت 24 می باشد. گتاچیو و همکاران (9)، ارتباط نزدیکی را بین SCFA و گاز تولیدی in vitro گزارش کردند و نتیجه گرفتند که استفاده از این رابطه که نشانگر قابلیت دسترسی انرژی برای دام می‌باشد، می‌تواند جهت تخمین تولید SCFA از گاز تولیدی، بکار رود. نسبت اسیدهای چرب فرار مختلف تولید شده در شکمبه نشخوارکنندگان نقش تعیین کننده‌ای در خصوصیات تولیدی دارد.

جدول3- پارامترهای تخمینی تولید گاز (درصد ماده خشک) در تیمارهای مختلف[1]

Table 3- The gas production parameters in experimental treatments[1]

پارامترهای تخمینی تولید گاز Gas production parameters	انواع سلنیوم Source of Selenium				SEM[2]	P-Value
	نانو سلنیوم Nano-Se	سلنیوم آلی Organic-Se	سلنیوم معدنی Inorganic-Se	کنترل Control		
انرژی قابل متابولیسم ME (MJ/kg DM)[3]	9.34[a]	8.88[ab]	8.28[ab]	7.59[b]	0.605	0.03
انرژی خالص شیردهی NE_L (MJ/kg DM)[4]	5.67[a]	5.33[ab]	4.89[ab]	4.38[b]	0.443	0.03
ماده آلی قابل هضم DOM (%)[5]	60.89[a]	57.95[ab]	54.10[ab]	49.70[b]	3.855	0.03
اسیدهای چرب کوتاه زنجیر SCFA (mMol/200mgD)[6]	1.12[a]	1.05[ab]	0.97[ab]	0.87[b]	0.085	0.03

[1]حروف متفاوت در هر ردیف از هر بخش نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار(P<0.05) می‌باشد.

[1]Means with different superscript letters in rows are significantly different (P<0.05).
[2]SEM: Standard error of the mean.
[3]ME: Metabolizable energy (MJ/kg DM)
[4]NE_L: Net energy for lactation (MJ/kg DM)
[5]DOM: Digestible organic matter (%)
[6]SCFA: Short chain fatty acids (mMol/200 mg DM)

پارامترهای تخمیری

a) تعداد پروتوزوآ

اثر جیره حاوی منابع مختلف سلنیوم، بر جمعیت پروتوزوآیی موجود در شکمبه دام‌های مورد آزمایش در جدول 4 ارائه شده است. همانطور که مشاهده می‌شود تیمار آلی موجب افزایش معنی‌دار تعداد کل پروتووزآ نسبت به تیمار معدنی و نانو شد. تیمار نانو و آلی به طور معنی داری موجب افزایش گونه های Dasytricha و Ophryoscolex نسبت به تیمار معدنی شدند. و نیز تیمار آلی به طور معنی داری گونه های Diplodinium و Eudiplodinium را نسبت به تیمارهای نانو و معدنی افزایش داد. تغییر معنی‌داری بین سایر گونه‌های شمارش شده، در بین تیمارها وجود نداشت.

میهالیکوا و همکاران (19) گزارش کردند که جنس افریواسکولکس فقط در محتویات شکمبه گوسفندهای گروه تغذیه شده با مکمل سلنیوم مشاهده شد اما در تیمار فاقد مکمل این جنس وجود نداشت، که تنها دلیل آن را می‌توان به اثرات آنتی اکسیدانی سلنیوم جهت ابقای افریواسکولکس نسبت داد و این بدان معناست که سلنیوم با ارتقای توان آنتی اکسیدانی محیط شکمبه و به تبع آن گونه‌های میکروبی موجود در آن، از جمله افریواسکولکس، باعث بقای آن در محیط شکمبه شده است (19). سلنیوم دارای اثر حفاظتی بر پروتوزوآهای شکمبه‌ای است و موجب افزایش بقا و فعالیت آنها می-شود. به علاوه پروتوزوآهای شکمبه نیز می‌توانند بالانس سلنیوم حیوان را تحت تاثیر قرار دهند (8 و 11).

احتمالا افزایش تعداد کل پروتوزوآ را میتوان به ارتقای توان آنتی-اکسیدانی محیط شکمبه با افزودن سلنیوم آلی و نانو، و به تبع آن افزایش گونه‌های میکروبی موجود در محیط شکمبه از جمله پروتوزوآ-ها نسبت داد (21).

جدول4- تاثیر اشکال مختلف سلنیوم بر جمعیت پروتوزوآیی شکمبه $(n\times10^6/ml)$[1]

Table 4- Effects of Selenium supplementation form on ruminal protozoa[1]

نوع پروتوزوآ Type of protozoa	انواع سلنیوم Source of Selenium نانو سلنیوم Nano-Se	سلنیوم آلی Organic-Se	سلنیوم معدنی Inorganic-Se	SEM[2]	P-Value
داسیتریش Dasytricha	4.40[a]	3.83[a]	1.65[b]	0.628	0.03
انتودینیوم Entodinium	5.44	5.50	5.41	0.051	0.51
افریواسکولکس Ophryoscolex	3.46[a]	3.64[a]	0.98[b]	0.655	0.04
دیپلودینیوم Diplodinium	2.97[b]	4.62[a]	2.24[b]	0.403	0.01
ائودیپلودینیوم Eudiplodinium	0.30[b]	2.42[a]	0.30[b]	0.512	0.03
سایر گونه های پروتوزوآ Other Protozoa	5.21	5.37	5.21	0.092	0.42
کل گونه های پروتوزوآ Total sum	5.74[b]	5.89[a]	5.72[b]	0.047	0.04

[1]حروف متفاوت در هر ردیف از هر بخش نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار($P<0.05$) می‌باشد.

[1]Means with different superscript letters in rows are significantly different ($P<0.05$).

[2]SEM: Standard error of the mean.

b) غلظت کل اسیدهای چرب فرار

نتایج مربوط به غلظت کل اسیدهای چرب فرار در جدول 5 ارائه شده است. نتایج نشان می‌دهد که افزودن مکمل نانوسلنیوم موجب افزایش غلظت اسیدهای چرب فرار در محتویات مایع شکمبه گوسفندان مورد آزمایش شده است و این افزایش به صورت معنی‌داری از مکمل های سلنومتیونین و سلنیت سدیم بیشتر بود ($P<0/05$). سلنومتیونین نسبت به سلنیت سدیم موجب افزایش اسید-های چرب فرار شد اما این افزایش به لحاظ آماری معنی‌دار نبود. شی و همکاران (25) افزایش غلظت اسیدهای چرب فرار را با افزودن مکمل سلنیومی به جیره گزارش کردند. زون و همکاران (29) افزایش کل اسیدهای چرب فرار تولیدی را با افزودن مکمل‌های نانو و آلی به جیره گزارش کردند. فاکسوا و همکاران (6) گزارش کردند که استفاده از مخمرسلنیومی باعث افزایش مقاومت و رشد جمعیت میکروبی شکمبه در بره‌ها و در نتیجه افزایش سطح اسیدچرب فرار تولیدی در شکمبه شد. احتمالا می‌توان افزایش غلظت کل اسیدهای چرب فرار تولیدی در شکمبه دام را به بهبود نرخ تخمیر میکروبی در شکمبه دام نسبت داد (25).

c) تولید نیتروژن آمونیاکی در شکمبه

نتایج مربوط به تولید نیتروژن آمونیاکی در شکمبه در جدول 5 ارائه شده است. نتایج نشان داد که تاثیر معنی‌داری بین تیمارها از نظر نیتروژن آمونیاکی وجود نداشت، هر چند که به لحاظ عددی، میزان تولید نیتروژن آمونیاکی نانو، نسبت به آلی و معدنی کمتر بود.

وانگ و همکاران (28) کاهش نیتروژن آمونیاکی را با استفاده از مخمر سلنیومی در گاوهای شیری گزارش کردند. نظیراوغلو و آکساکال (20 و 21) گزارش کردند که تکمیل سلنیوم در جیره غذایی دام هیچ تغییری را در غلظت نیتروژن آمونیاکی تولید شده و همچنین تولید متان در اثر تخمیر میکروبی در محیط شکمبه ایجاد نکرد. کاهش نیتروژن آمونیاکی میتواند به دلیل اثر مثبت سلنیوم بر رشد میکروارگانیسم ها به ویژه باکتری های سلولایتیک که منحصرا از نیتروژن آمونیاکی استفاده می‌کنند باشد.

d) تاثیر منابع سلنیومی بر میزان pH

تاثیر معنی‌داری بین تیمارها از نظر pH وجود نداشت. شی و همکاران (25) بیان نمودند که استفاده از نانو سلنیوم موجب کاهش نسبت استات به پروپیونات و pH آن می‌گردد. زون و همکاران (29)، گزارش نمودند که میانگین مقادیر pH شکمبه و نسبت استات به پروپیونات در گوسفندان تغذیه شده با N-Se در مقایسه با حیوانات دریافت کننده سلنیوم آلی و جیره شاهد پایین‌تر بود.

نتیجه گیری کلی

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که استفاده از منابع مختلف سلنیوم در جیره احتمالا می‌تواند با بهبود عملکرد شکمبه موجب افزایش تعداد پروتوزوآ و افزایش کل اسید های چرب فرار شود که در این زمینه اشکال نانو و آلی عملکرد بهتری نسبت به فرم معدنی داشتند. در این زمینه انجام تحقیقات بیشتری بر وری حیوان زنده در جهت تعیین تاثیر استفاده از انواع مختلف مکمل سلنیومی بر عملکرد دام، جهت حصول به نتیجه کاربردی ضروری به نظر می رسد.

جدول5- تاثیر اشکال مختلف سلنیوم برpH، غلظت کل اسیدهای چرب فرار و نیتروژن آمونیاکی شکمبه[1]

Table 5- Effects of Selenium supplementation on ruminal pH, volatile fatty acids and ammonia-N[1]

متغیر Variable	انواع سلنیوم Source of Selenium: نانو سلنیوم Nano-Se	سلنیوم آلی Organic-Se	سلنیوم معدنی Inorganic-Se	SEM[2]	P-Value
VFA (mmol/lit)[3]	109.83[a]	98.00[b]	89.83[b]	3.047	<.01
NH4 (mg/dL)[4]	13.72	13.73	14.10	0.388	0.14
pH[5]	6.46	6.59	6.36	0.162	0.13

[1]حروف متفاوت در هر ردیف از هر بخش نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار($P<0.05$) می‌باشد.

[1]Means with different superscript letters in rows are significantly different ($P<0.05$).
[2]SEM: Standard error of the mean.
[3]VFA: Volatile fatty acids
[4]NH4: Ruminal ammonia-nitrogen
[5]PH: potential of hydrogen

منابع

1- AbdElGhany, H, and J. L. Tortora-Perez. 2010 .The importance of selenium and the effects of its deficiency in animal health. Small Ruminant Research, 89: 185-192.
2- AOAC. 2002. Official Methods of Analysis. 17th Edn. AOAC International, Gaithersburg, Maryland, USA.
3- Barceloux, D. G. 1999. Selenium. Journal of Clinical Toxicology, 37: 145-172.
4- Blummel, M, and E. R. Ørskov. 1993. Comparison of gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting feed intake in cattle. Animal Feed Science and Technology, 40: 109–119.
5- Broderick, G. A, and J. H. Kang. 1980. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and in vitro media1. Journal of Dairy Science, 63(1): 64-75.
6- Faixova, Z., S. Faix, L. Leng, P. Vaczi, Z. Makova, and R. Szaboova. 2007. Hematological, blood and rumen chemistry changes in lambs following supplementation with Se-yeast. Acta Veterinaria Brunensis, 76: 3-8.
7- Fedorak, P. M, and S. E. Hrudey. 1983. A simple apparatus for measuring gas production by methanogeniccultuvesin serum bottles. EnvirinTechnollett, 4: 425-435.
8- Fujihara, T., T. Imamura, and E. A Orden. 2004. Utilization of protozoal selenium in young Goats. Journal of Animal Feed Science, 13: 265-268.
9- Getachew, G., H. P. S. Makkar, and K. Becker. 2002. Tropical browses: content of phenolic compounds, in vitro gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acids and in vitro gas production. Journal of Agricultural Science, 139: 341-352.
10- Hidiroglou, M., D. P. Heaney, and K .J. Jenkins. 1968. Metabolism of inorganic selenium in rumen bacteria. Canadian Journal of Physiological Pharmacology, 46: 229–232.
11- Hidiroglou, M., and K. J. Jenkins. 1974. Influence of defaunation on the utilization of selenomethionine in the sheep. Annales De Biologie Animale, Biochimie, Biophysique, 14: 157–165.
12- Ivan, M., L. Neill, and T. Entz. 2000. Ruminal fermentation and duodenal flow following progressive inoculation of fauna free wethers with major individual species of ciliate protozoa or total fauna. Journal of Animal Science, 78: 750-759.
13- Kim, J., P. J. Vansoest, and G. F. Combs. 1997. Studies on the effects of selenium on rumen microbial

fermentation in vitro. Biological Trace Element Research, 56: 203-213.
14- Klasing, K. C., J. P. Goff, and J. L. Greger. 2005. Selenium: Mineral tolerance of animals. The National Academics Press, Washington, DC. pp, 321-347.
15- Markham, R. 1942. A steam distillation apparatus suitable for micro-Kjeldahl analysis. Biochemical Journal, 36(10): 790-795.
16- McDougall, E. I. 1948. The composition and output of sheep in saliva. Biochemical Journal, 43: 99-109.
17- Menke, K. H., L. Rabb, A. Saleweski, H. Steingass, D. Fritz, and W. Schnider. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feed stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro. Journal of Agricultural Science, 93: 217-222.
18- Menke, K. H, and H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and gas production using rumen fluid. Animal Research Development, 28: 7–55.
19- Mihalikova, K., L. Gresakova, K. Boldizarova, S. Faix, L. Leng, and S. Kisidayova. 2005. The effects of organic selenium supplementation on the rumen ciliate population in sheep. Folia Microbiology, 50: 353-356.
20- Naziroglu, M., M. Aksakal, M. Cay, and S. Celik. 1997a. Effects of vitamin E and selenium on some rumen parameters in lamb. Acta Veterinaria Hungarica, 45: 447–456.
21- Naziroglu, M., M. Aksakal, M. Cay, and S. Celik. 1997b. Effects of vitamin E and selenium on rumen protozoa in lambs. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 21: 81–90.
22- Ogimoto, K, and S. Imai. 1981. Atlas of Rumen Microbiology. Japan Scientific Society Press, Tokyo.
23- Opatpatanakit, Y., R. C. Kellaway, I. J. Lean, G. Annison, and A. Kirby. 1994. Microbial fermentation of cereal grains in vitro. Australian Journal of Agricultural Research, 45: 1247-1263.
24- Ramirez, B. J. E., J. L. TortoraHernandez, and M. Huerta. 2001. Main causes of mortalities in dairy goat kids from the Mexican plateau. Small Ruminant Research, 41: 77-80.
25- Shi, L. G., W. J. Xun, W. B. Yue, C. X. Zhang, Y. S. Ren, Q. Liu, Q. Wang, and L. Shi. 2011. Effect of elemental nano-selenium on feed digestibility, rumen fermentation, and purine derivatives in sheep. Animal Feed Science and Technology, 163: 136–142.
26- Underwood, E. J., and N. F. Suttle. 1999. The mineral nutrition of livestock. CAB international, Wallingford, U.K.
27- Van soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber,and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, 74: 3583-3592.
28- Wang, C., Q. Liu, W. Z. Yang, Q. Dong, X. M. Yang, D. C. He, P. Zhang, K. H. Dong, and Y. X. Huang. 2009. Effects of selenium yeast on rumen fermentation, lactation performance and feed digestibilities in lactating dairy cows. Livestock Science, 126: 239–44.
29- Xun, W., L. Shi, W. Yue, C. H. Zhang, Y. Ren, Q. Liu. 2012. Effect of high dose nano-selenium and selenium–yeast on feed digestibility, rumen fermentation, and purine derivatives in sheep. Biological Trace Element Research, 150: 130–136.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 11, No. 3, Fall 2019, p. 307-317

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد 11، شماره 3، پاییز 1398، ص. 317-307

The Effects of Different Forms of Selenium on Gas Production Parameters, Rumen Fermentation and Rumen Protozoa Population

S. Dehghani[1], A. Taghizadeh[2*], H. Mohammadzadeh[3]

Received: 03-11-2017
Accepted: 11-04-2018

Introduction Generally, most feeds used in livestock nutrition are deficient in some nutrients, and require nutritional supplements. Among the supplements, micro and macro minerals are particular importance. Selenium (Se) plays an important role in the reproductive function and immune system and is known as an antioxidant and catalyst for the production of thyroid hormone. It is believed that low selenium absorption in ruminants is due to the deficiency of selenium in ration and its conversion into insoluble form. Nano-particles are smaller and more active than larger particles. The importance of Selenium for rumen microorganisms are not entirely clear. Also, selenium is an essential trace element, and its importance for animal health and productivity has been well confirmed. Selenium has known to be involved in enzyme activity and preventing oxidative damage to body tissue. Selenium plays important roles in antioxidant systems, prevents cell damage and is necessary for growth, fertility, and immune system in farm animals. Recently, nano -elemental Se has attracted wide spread attention due to its high bioavailability and low toxicity, because nanometer particulates exhibit novel characteristics, such as great specific surface area, high surface activity, a lot of surface active centers, high catalytic efficiency and strong adsorbing ability and over and above the character of low toxicity of Se0. Dietary selenium is an essential trace element for animals and humans with a variety of biological functions. It plays important roles in the regulation of thyroid hormone metabolism, cell growth and antioxidant systems thus, together with alpha-tocopherol prevents cells against oxidative stress damage, also these compounds are necessary for growth, fertility, and immune system health in animals and humans. The objective of this research was to investigation the effects of different sources of selenium on digestion characteristics of concentrate mixture of diets in high producing lactating dairy cows using in vitro gas production technique.

Materials and Methods Four male ruminally fistulated sheep, average 43±4.8 kg of BW, were used in a replicated 4×4 Latin square experiment. Sheep were fed twice daily (08:00 and 18:00 h) at maintenance nutrition requirements with a basal diet consisting of 400 g/kg (dry matter) DM of basal concentrates and 600 g/kg DM of forage. Sheep were placed in metabolic cages individually and fresh water was freely available during the experimental period. This experiment was conducted in four periods of 28 days with 21 d adaptation period and 7 d for data tacking. Treatments were: 1. Basal diet 2. Basal diet + 0.3 ppm nano selenium, 3. Basal diet + 0.3 ppm seleno methionine, 4. Basal diet + 0.3 ppm selenite sodium. The rumen fluid was mixed with artificial saliva (1:2 ratio, respectively) in lab, and then nano-Selevels and seleno methionine added to it. In gas production method, 300 mg of each treatment weighted and incubated for 2, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 36, 48, 72, 96 hours. In order to determine the effects of different forms of selenium on rumen parameters, concentrations of VFA and NH4, value of pH and population of protozoa were examined. Samples of rumen fluid were collected through the cannula at 4 h after feeding on days 19 and 20 of each collection period for pH, NH3-N, and volatile fatty acids (VFAs) determination. Ruminal pH was immediately measured using an electric pH meter. The samples were subsequently stored frozen at −20 ◦C until analyses.

Results and Discussion Potential of gas production (fraction A) of nano, organic and inorganic treatments were higher (201.9, 344.0, 321.7 and 319.8 ml in control, nano, organic and mineral treatments, respectively) compared to control treatment ($P<0.05$). The nano selenium treatment had higher VFA concentration (109.83, 98.00 and 89.83 mmol/l in nano, organic and mineral treatments, respectively) when compared with organic and inorganic treatments ($P<0.05$). Rumen NH4 concentration was not affected by treatments. The organic treatment caused a significant increase in total protozoa population when compared with nano and inorganic treatments

1- MSc Student of Ruminant Nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
2- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
3- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
(*-Corresponding Author Email: ataghius@yahoo.com)

(P<0.05).

Conclusion The results indicated that selenium supplementation in ruminant diet improves ruminal nutrients degradability's compared to control. Therefore, the use of nano-Se resulted to increase digestibility and fermentation of nutrients resulted improved rumen microorganisms activities. Although nano and organic selenium was better than inorganic treatment in ruminal degradability and rumen parameters, however there was not any significant differences between these two treatments.

Key words: Gas production, Nano, Selenium, Sheep, Rumen fermentation parameters

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 11, No. 3, Fall 2019, p. 319-329

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد 11، شماره 3، پاییز 1398، ص. 329-319

تاثیر مکمل‌های آلی و معدنی روی در جیره بره‌های نر نژاد کرمانی بر غلظت مواد معدنی، وضعیت آنتی‌اکسیدانی و برخی فراسنجه‌های خون

امیر موسائی[1*]

تاریخ دریافت: 1396/08/20
تاریخ پذیرش: 1397/04/19

چکیده

به‌منظور بررسی اثر تغذیه مکمل‌های روی-متیونین و سولفات روی بر غلظت مواد معدنی و برخی فراسنجه‌های خون بره‌های نر کرمانی، 21 راس بره 7 ماهه با متوسط وزنی 90/0± 28 کیلوگرم انتخاب و جیره‌های شاهد (فاقد مکمل روی)، روی متیونین (40 میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک) و سولفات روی (40 میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک) در قالب یک طرح کاملا تصادفی با 3 تیمار و 7 تکرار به مدت 9 هفته بر روی بره‌ها اعمال شد. خون‌گیری در شروع (زمان صفر) و هفته‌های 3، 6 و 9 آزمایش انجام شد. غلظت کلسیم و فسفر سرم در طی زمان افزایش یافت (P<0/05) اما بین گروه‌های آزمایشی تفاوتی وجود نداشت. یافته‌های این آزمایش نشان داد که غلظت روی سرم بره‌ها قبل از شروع آزمایش کمتر از حد نرمال (90-150 میکروگرم در دسی‌لیتر) بود، اما در طی آزمایش افزایش یافت. میانگین غلظت روی سرم خون در گروه‌های تغذیه‌شده با مکمل‌های آلی و معدنی روی به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه شاهد بود (P<0/05) و این تفاوت بیشتر در هفته سوم آزمایش مشهود بود. غلظت مس، گلوکز و پروتئین تام سرم تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرارنگرفت. اما در طی زمان، غلظت گلوکز و پروتئین تام افزایش یافت (P<0/01). میانگین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گروه روی-متیونین بیشتر از شاهد بود (P<0/05). فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز، مشابه با تغییرات روی، در بره‌های تغذیه‌شده با مکمل‌های روی در هفته 3 آزمایش بالاتر بود (P<0/05). نتایج این آزمایش نشان داد که استفاده از مکمل‌های روی-متیونین و سولفات روی به میزان 40 میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک بره‌های نر تغذیه‌شده با جیره پایه حاوی 48 میلی‌گرم روی و 11/7 میلی‌گرم مس در هر کیلوگرم ماده خشک، سبب افزایش غلظت روی سرم خون و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و آلکالین فسفاتاز شد و بر غلظت سرمی کلسیم، فسفر، مس، گلوکز و پروتئین تام اثر منفی نداشت. همچنین تفاوتی بین اثرات دو مکمل آلی و معدنی روی بر فراسنجه‌های یاد شده مشاهده نشد.

واژه‌های کلیدی: بره کرمانی، روی-متیونین، سولفات روی، سیستم آنتی اکسیدانی، متابولیت های خون

مقدمه

بخش زیادی از کشور ایران بویژه در بخش‌های مرکزی و جنوبی در منطقه خشک و نیمه‌خشک واقع شده است که دام‌ها در این مناطق از کمبود مواد مغذی در طی سال رنج می‌برند. یکی از راه‌های بهبود سلامت دام و تولیدات دامی استفاده از عناصر کم‌مصرف به‌عنوان عوامل بهبود دهنده متابولیکی[2] می‌باشد. این عوامل می‌توانند عملکرد رشد و متابولیسم دام را بهبود بدهند (12). یکی از عناصر ضروری برای دام‌ها بویژه گوسفند، عنصر روی است. برخی از پژوهش‌ها نشان داده است که خاک‌های ایران دارای کمبود ماده معدنی روی هستند (18). این عنصر در ساختار بسیاری از متالوآنزیم‌ها مانند سوپراکسید دیسموتاز، کربنیک انهیدراز، الکل دهیدروژناز، آلکالین فسفاتاز و لاکتات دهیدروژناز مشارکت دارد و در دام‌هایی که از خوراک‌های حاوی غلظت‌های بالای مس مصرف می‌کنند، به‌علت رابطه‌ی آنتاگونیستی مس با روی، و یا در دام‌هایی که الیاف تولید می‌کنند، نظیر گوسفندان پشمی، کمبود آن رایج‌تر است (14). به‌طور کلی منابع مکمل روی به دو دسته منابع معدنی (مانند سولفات و اکسید روی) و منابع آلی (مانند روی-متیونین، روی-پروتئینات و روی-لایزین) تقسیم‌بندی می‌شوند. نتایج پژوهش‌های انجام‌شده در زمینه‌ی اثرات روی بر سلامت و تولید دام‌های نشخوارکننده، متفاوت بوده است. برخی پژوهش‌ها حاکی از جذب و ابقاء بالاتر و غلظت

1- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران
(*- نویسنده مسئول: moosaee.amir@gmail.com)
Doi:10.22067/ijasr.v11i3.68647
2-Metabolic modifiers

بافتی و زیست‌فراهمی بیشتر منابع آلی روی نسبت به منابع معدنی آن است (25). افزایش نرخ جذب روده‌ای روی و بهبود وضعیت آنتی اکسیدانی خون میش‌های تغذیه‌شده با مکمل آلی روی گزارش شده است (15). روی از طریق فعال‌نمودن آنزیم سوپراکسید دیسموتاز سبب بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی شده و می‌تواند در شرایط بروز تنش‌های اکسیداتیو سبب کاهش آسیب‌های وارده به سلول شود. با وجود این، برخی پژوهش‌های دیگر عدم تفاوت منابع آلی با معدنی و تاثیر آن‌ها بر تولید و فراسنجه‌های خونی را بیان کرده‌اند (11). نرخ جذب روی در دستگاه گوارش نشخوارکنندگان بین 10 تا 30 درصد متغیر است که به نوع مکمل روی و مقدار عناصر دیگر مانند آهن و مس جیره بستگی دارد. از سوی دیگر، احتیاجات روی بسته به نژاد، سن، و تولید حیوان متفاوت است به‌طوری‌که احتیاجات روی در گوسفندان پشمی و یا در شرایط تنش بیشتر است (28). در شرایط گرمسیری، دماهای بالای 30 درجه سانتی‌گراد و شاخص دمایی-رطوبتی (THI)[1] بالای 80 سبب بروز تنش گرمایی در گوسفند می‌شود که وجود تنش سبب افزایش نیاز به مواد معدنی می‌شود (14و21). بنابراین نرخ جذب پایین روی از یک سوی و کمبود خوراک و وجود تنش‌های محیطی و انگلی در مناطق خشک کشور از سوی دیگر، نیاز دام‌ها به افزودن روی در جیره را ایجاب می‌کند. متاسفانه نیاز گوسفندان ایران در مراحل مختلف تولید به روی و تغییرات فراسنجه‌های خونی آن‌ها در پاسخ به تغذیه با مکمل‌های آلی و معدنی روی به‌خوبی مشخص نشده است. از این‌رو هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر مکمل‌های روی بر غلظت مواد معدنی و برخی فراسنجه‌های خون و همچنین مقایسه مکمل آلی با معدنی در بره‌های نر کرمانی بود.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر افزودن مکمل روی-متیونین و سولفات روی بر غلظت عناصر و متابولیت‌های خون بره‌های نر کرمانی، آزمایشی در قالب طرح کاملا تصادفی با استفاده از 21 بره 7 ماهه (متوسط وزنی 0/9±28 کیلوگرم) با 3 تیمار و 7 تکرار به مدت 11 هفته (2 هفته سازگاری و 9 هفته جمع‌آوری داده) در ایستگاه تحقیقاتی شهید بهشتی دانشگاه جیرفت انجام شد. گروه‌های آزمایشی شامل 1) شاهد (فاقد روی افزودنی)؛ 2) تغذیه با 40 میلی‌گرم روی در کیلوگرم جیره از مکمل روی-متیونین (حاوی 10 درصد روی، Availa® Zn, Zinpro, USA) و 3) تغذیه با40 میلی‌گرم روی در کیلوگرم جیره از مکمل سولفات روی 7 آبه (حاوی 23 درصد روی، شرکت جوانه خراسان، ایران) بود. جیره‌های آزمایشی (جدول 1) با استفاده از نرم افزار سیستم تغذیه نشخوارکنندگان کوچک (SRNS نسخه 4468.9.1) فرموله و موازنه شدند. نسبت علوفه به کنسانتره 25 به 75 بود. خون‌گیری پس از گرسنگی شبانه در هفته‌های صفر (قبل از آغاز تغذیه مکمل‌ها)، 3، 6 و 9 آزمایش انجام شد. بره‌ها در جایگاه‌های انفرادی نگهداری و اندازه‌گیری مصرف خوراک بصورت روزانه و با کسر باقیمانده خوراک از مقدار خوراک داده‌شده انجام شد. سنجش مواد مغذی جیره بر اساس روش‌های AOAC (2) انجام شد. ماده خشک نمونه‌های خوراک با قراردادن خوراک در آون با دمای 65 درجه به مدت 72 ساعت، مقدار پروتئین خام نمونه از روش کجلدال با دستگاه تقطیر و تیتر کجلدال (Behr، آلمان) و چربی با استفاده از دستگاه سوکسله (Behr، آلمان) اندازه‌گیری شد. مقدار الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) با دستگاه آنالیز الیاف VELP (Scientifica، ایتالیا) طبق روش ون سوست (29) تعیین شد. سنجش غلظت مس و روی نمونه‌های خوراک و سرم با استفاده از دستگاه اسپکتروسکوپی جذب اتمی (مدل پرکین المر، آمریکا) انجام هضم شدند. به‌طور خلاصه، نمونه‌های خشک شده و خاکستر شده با استفاده از اسید نیتریک غلیظ به مدت 45 دقیقه در 60-70 درجه سانتی‌گراد حرارد داده شدند و سپس پراکسید هیدروژن به آن‌ها افزوده شد و به مدت 30 دقیقه تا نزدیک خشک شدن حرارت دیدند سپس باقیمانده در اسیدهیدروکلریک حل شد (23). با استفاده از استانداردهای خالص هر عنصر و تزریق نمونه‌ها، منحنی‌های استاندارد ترسیم و غلظت عناصر محاسبه شد. غلظت مس و روی علوفه، کنسانتره و خوراک مخلوط در جدول 2 آورده شده است. غلظت کلسیم، فسفر، گلوکز، پروتئین تام و فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز (کیت‌های شرکت پارس آزمون، تهران، ایران) با دستگاه اسپکتروفتومتر (اتوآنالایزر، BT 3500، اسپانیا) اندازه‌گیری شد. تعیین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (کیت رندوکس-رنسود، شرکت رندوکس، انگلستان) در گلبول‌های قرمز و بر اساس روش سان و همکاران (27) انجام شد. بدین منظور 0/5 میلی‌لیتر نمونه خون کامل به‌مدت 10 دقیقه در 3000 دور در دقیقه (rpm) سانتریفیوز شد و پس از برداشت پلاسما، گلبول‌های قرمز 4 بار با 3 میلی‌لیتر محلول کلرید سدیم 0/9 درصد شستشو و سانتریفیوژ شدند. همولیزات گلبول قرمز پس از مخلوط‌شدن با آب مقطر سرد و بافر فسفات رقیق، آماده سنجش دستگاهی (دستگاه اسپکتروفتومتری با طول موج 505 نانومتر) شدند. اصول این روش بر اساس جلوگیری از کاهش 2-(4-یدوفنیل) 5-فنیل تترازولیوم کلراید توسط سیستم زانتین-زانتین اکسیداز (به‌عنوان تولیدکننده رادیکال سوپراکسید) بود. میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به‌صورت واحد در گرم هموگلوبین گزارش شد.

1- Temperature humidity index

جهت محاسبه شاخص دمایی-رطوبتی (THI)[1] از داده‌های بدست‌آمده شامل حداکثر، حداقل و میانگین دما و درصد رطوبت نسبی استفاده شد. شاخص دمایی-رطوبتی بر اساس فرمول گارسیا-اسپیرتو و همکاران (4) محاسبه‌گردید:

THI = 0/8 × بیشینه دما + (کمینه رطوبت نسبی/100) × (بیشینه دما – 14/4) + 46/4 (1)

آنالیز آماری نتایج با رویه مختلط (Mixed) نرم‌افزار آماری SAS (19) و با درنظر گرفتن اثر دام به‌عنوان اثر تصادفی، تیمار به‌عنوان اثر ثابت و وزن اولیه و سطوح فراسنجه‌های خونی در شروع آزمایش (زمان صفر) به‌عنوان متغیرکمکی[2] انجام‌شد. درصورت معنی‌دار نشدن اثر متغیر کمکی، این اثر از مدل آنالیز آماری حذف شد. آنالیز مشاهدات مربوط به غلظت فراسنجه‌های خونی در زمان‌های مختلف در دوره آزمایشی به‌صورت اندازه‌گیری‌های تکرارشده[3] در زمان (با اثرات ثابت تیمار، زمان (روز یا هفته)، تیمار × زمان و اثر تصادفی بره داخل هر ترکیب تیمار × زمان) صورت‌گرفت. ساختار کوریانسی که کمترین خطا را داشت، به‌عنوان ساختار کواریانس مدل انتخاب شد. سطح معنی‌داری نتایج به‌لحاظ آماری $P < 0/05$ درنظر گرفته شد. $P < 0/1$ نیز به‌عنوان تمایل به معنی‌داری انتخاب شد. سطح معنی‌داری اثرات تیمار، زمان و تیمار × زمان برای آنالیز داده‌ها در زمان‌های 3، 6 و 9 هفتگی آورده شده است. مدل آماری طرح پایه به‌صورت ذیل بود:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij} \quad (2)$$

Y_{ij} = متغیر وابسته (هر مشاهده)؛ μ = میانگین کل مشاهدات؛ T_i= اثر ثابت تیمار؛ e_{ij} = خطای آزمایش

نتایج و بحث

میانگین مصرف خوراک بره‌ها در گروه شاهد، روی-متیونین و سولفات روی به‌ترتیب 902، 900 و 842 گرم در روز (با خطای استاندارد 33/31) بود که به‌لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری باهم نداشت. طبق نتایج بدست‌آمده (جدول 3)، بره‌های تغذیه‌شده با مکمل‌های روی-متیونین ($P = 0/009$) و سولفات روی ($P = 0/044$) غلظت سرمی روی بالاتری در مقایسه با گروه شاهد در هفته سوم آزمایش داشتند. میانگین غلظت روی سرم در کل دوره در گروه شاهد، روی-متیونین و سولفات روی به ترتیب 98، 124 و 114 میکروگرم در دسی‌لیتر (با خطای استاندارد 5/01) بود که میانگین غلظت روی بره‌های تغذیه‌شده با مکمل‌های روی بالاتر از گروه شاهد بود ($P < 0/05$). همچنین غلظت روی در سرم خون بره‌های گروه روی-متیونین در هفته 9 آزمایش در مقایسه با گروه شاهد بالاتر بود که این تفاوت به‌لحاظ آماری تمایل به معنی‌داری داشت ($P = 0/09$). با وجود این، بین گروه تغذیه‌شده با مکمل روی-متیونین با بره‌های گروه سولفات روی تفاوتی وجود نداشت.

طبق منابع (1)، مقادیر نرمال روی سرم خون دام‌های نشخوارکننده بین 0/9 تا 1/5 میلی‌گرم در لیتر (معادل با 90 تا 150 میکروگرم در دسی‌لیتر) می‌باشد. نتایج غلظت روی در زمان صفر نشان داد که در هر سه گروه، غلظت روی سرم کمتر از 90 میکروگرم در دسی‌لیتر بود (جدول 3) که بیانگر کمبود روی در بره‌های مورد استفاده در این آزمایش است. مطالعه‌ی حاضر در تابستان و در منطقه‌ی گرمسیری انجام شد که دام‌ها قبل از ورود به آزمایش از مراتع فقیر تغذیه می‌کردند که این تنش‌های غذایی و گرمایی می‌تواند دلیلی بر غلظت پایین روی خون آن‌ها باشد زیرا در شرایط کمبود روی خاک، غلظت روی در گیاهان کاهش می‌یابد و نیاز به افزودن روی به جیره می‌باشد (14و 18). از سوی دیگر بعلت کاهش مصرف خوراک و افزایش دفع، نیاز دام به عناصر در شرایط تنش افزایش می‌یابد (12 و 14). سنجش داده‌های دما و رطوبت (شکل 1) نشان‌دهنده‌ی میانگین THI 84/7 واحد و میانگین دمای بیشینه 43 درجه سانتی‌گراد در طی آزمایش بود. پژوهش‌ها (21) نشان داد که قرارگرفتن گوسفند به‌مدت طولانی در معرض بیشینه‌ی دمای بالاتر از 30 درجه سانتی‌گراد و THI بالاتر از 80 سبب بروز تنش گرمایی و کاهش تولید می‌شود و دفع روی نیز در شرایط تنش افزایش می‌یابد (14). از سوی دیگر، بیشتر خاک‌های ایران غلظت روی پایینی دارند (18). پس از اعمال تیمارها، میانگین غلظت روی در کل دوره به‌طور قابل توجهی افزایش یافت اما این افزایش در هفته 3 در مقایسه با هفته‌های 6 و 9 معنادار بود. دلیل تفاوت غلظت روی گروه‌های تغذیه‌شده با مکمل‌های روی در مقایسه با شاهد در هفته 3 در تقابل با هفته‌های 6 و 9 می‌تواند به نقش هموستازی بدن در تنظیم غلظت روی ازطریق تغییر نرخ جذب و دفع باشد؛ به‌طوری‌که پس از رسیدن غلظت روی سرم به سطح مناسب، کنترل هموستاتیک با کاهش نرخ جذب و یا افزایش دفع بدنبال حفظ غلظت در دامنه‌ی مناسب و جلوگیری از سیر صعودی غلظت روی خون است (8، 14). نتایج پژوهش‌های انجام‌شده در این زمینه متفاوت بوده است. مطابق با یافته‌های پژوهش حاضر، پژوهش‌ها بر روی بزها با تغذیه 65 میلی گرم مکمل روی در هرکیلوگرم خوراک (3)، و بره‌های زندی با 20 میلی‌گرم روی (10)، افزایش غلظت روی خون را نشان داد. همچنین جیا و همکاران (6)، افزایش غلظت روی پلاسما با تغذیه مکمل‌های روی در بزها را مشاهده کردند، در حالی‌که در پژوهش‌های دیگری در گوساله‌ها (11و26) و بزهای شیری (19)، عدم تاثیر مکمل‌های روی بر غلظت روی خون گزارش شد.

1- Temperature humidity index
2- Co-Variate
3- Repeated measures

جدول1- مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره آزمایشی

Table1- Ingredients and chemical composition of experimental diet

اجزاء جیره Ingredients	مقدار (درصد) Amount (%)
یونجه Alfalfa hay	25
دانه جو Barley grain	56.8
کنجاله سویا Soybean meal	8.3
سبوس گندم Wheat bran	6.7
بیکربنات سدیم Sodium bicarbonate	0.8
نمک Salt	0.5
کربنات کلسیم Calcium carbonate	0.9
مکمل مواد معدنی-ویتامینی[1] Mineral-vitamin mixture	1
ترکیب شیمیایی (درصد) Chemical composition (%)	
پروتئین خام Crude protein	14.5
عصاره اتری Ether extract	2.4
الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDF	32.8
انرژی متابولیسمی (مگاکالری در کیلوگرم)[2] ME (Mcal kg^{-1})	2.5
کلسیم Ca	0.82
فسفر P	0.45
روی Zn	48

[1]در مکمل مواد معدنی-ویتامینی استفاده‌شده (در هرکیلوگرم ماده خشک مکمل): کلسیم 195، فسفر 90، منیزیم 20، آهن 3 و منگنز 2 گرم؛ مس 280، کبالت 100، ید 100، سلنیوم 10 و آنتی-اکسیدان 400 میلی‌گرم؛ ویتامین A 500000 واحد، ویتامین D 100000 واحد و ویتامین E 100 میلی‌گرم.

[2]انرژی متابولیسمی (مگاکالری در کیلوگرم جیره) توسط نرم‌افزار جیره‌نویسی نشخوارکنندگان کوچک (SRNS) محاسبه شده‌است.

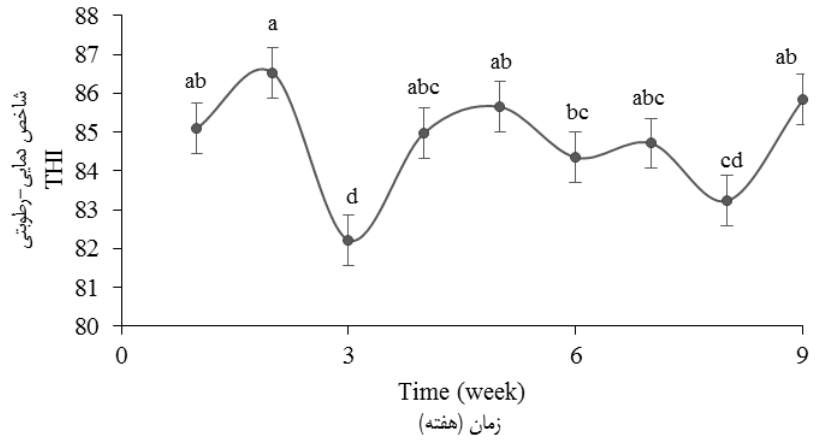
[1]The mineral-vitamin mixture contained (per kg supplement): Ca 195 g, P 90 g, Mg 20 g, Fe 3 g, Mn 2 g, Cu 280 mg, Co 100 mg, I 100 mg, Se 10 mg, antioxidant 400 mg; Vitamin A 500000 IU, Vitamin D3 100000 IU and Vitamin E 100 mg.

[2] Metabolisable energy (Mcal kg^{-1}) was calculated by small ruminant nutrition system software (SRNS).

جدول 2- غلظت روی و مس جیره پایه

Table2- Zn and Cu concentrations of the basal diet (mg kg^{-1} DM)

اقلام Items	روی (میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک) Zn (mg/kg DM)	مس (میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک) Cu (mg/kg DM)
کنسانتره Concentrate feed	54	12
علوفه یونجه Alfalfa hay	30	10.7
خوراک کاملا مخلوط Total mixed ration	48	11.7



شکل 1- شاخص دمایی-رطوبتی (THI) در طی دوره آزمایش

Figure1- Temperature-humidity index (THI) during experimental period

تنوع نوع دام، شرایط تولیدی، سن، غلظت روی جیره پایه و شرایط آب و هوایی از دلایل تفاوت در نتایج پژوهش‌های مختلف است. با این‌حال، یکی از مهمترین علت‌های افزایش غلظت روی سرم در بره‌های مصرف‌کننده مکمل‌های روی در آزمایش حاضر می‌تواند غلظت روی پایین خون آن‌ها قبل از تغذیه باشد. پژوهش‌ها (8) نشان داد در شرایطی که غلظت روی خون در حد نرمال قرار دارد، افزایش غلظت روی خون با تغذیه مکمل‌ها به سختی انجام می‌شود.

میانگین غلظت مس در طی آزمایش در گروه شاهد، روی-متیونین و سولفات روی به ترتیب 31/5، 30/4 و 34/8 میکروگرم در دسی‌لیتر بود که به‌لحاظ آماری تفاوتی با هم نداشت. غلظت مس در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری (جدول 3) نیز در گروه‌های آزمایشی با هم اختلافی نداشت. با وجود این‌که رابطه آنتاگونیستی شدیدی بین مس و روی در سطح جذب وجود دارد و با افزایش غلظت روی جیره، جذب مس کاهش می‌یابد (14)، غلظت مس سرم بره‌ها در پژوهش حاضر تحت تاثیر تغذیه با مکمل‌های روی قرار نگرفت که با نتایج آزمایشات انجام‌شده بر روی گوساله‌ها (9) مطابقت دارد.

جدول3- غلظت روی و مس سرم خون بره‌های تغذیه‌شده با مکمل‌های روی[1]

Table 3- Serum zinc and copper concentrations of lambs fed zinc supplements[1]

فراسنجه Parameter	زمان (هفته) Time (Week)	گروه آزمایشی Experimental group: شاهد Control	روی-متیونین Zn-Met	سولفات روی $ZnSO_4$	SEM	P-Value: تیمار Trt	زمان Time	تیمار*زمان Trt*Time
روی (میکروگرم در دسی‌لیتر) Zn (μg dl^{-1})						0.005	0.15	0.61
	0	85.5	89.9	81.0	9. 41			
	3	81.3^{b}	119.5^{a}	108.7^{a}	9.93			
	6	103.8	118.0	117.7	9.93			
	9	110.2	135.0	114.7	9.93			
مس Cu						0.73	0.90	0.96
	0	42.6	38.8	47.4	5.84			
	3	34.5	29.5	35.8	5.93			
	6	31.2	29.8	33.0	5.93			
	9	28.8	32.0	35.8	5.93			

[1]میانگین‌های هر ردیف با حروف غیرمشترک دارای اختلاف می‌باشند (P < 0/05).

[1]Means within the same row with different superscripts differ (P < 0.05).

برخلاف نتایج این آزمایش، بالانس منفی مس با تغذیه 60 میلی-گرم مکمل روی در هرکیلوگرم خوراک در گوساله‌ها گزارش شد (7). عدم تاثیر مکمل‌های روی بر غلظت مس در آزمایش حاضر می‌تواند ناشی از غلظت کافی مس جیره پایه و سطح نرمال مکمل روی افزوده شده باشد. سطح مس جیره پایه پژوهش حاضر (11/7 میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک) در دامنه‌ی نرمال (7-10 میلی‌گرم در کیلوگرم) برای گوسفند می‌باشد (13) و اغلب کمبود مس در شرایطی رخ می-دهد که جیره پایه دارای مقادیر پایین مس باشد.

مطالعات اندکی در رابطه با تاثیر مکمل‌های روی بر غلظت کلسیم و فسفر در دام‌های نشخوارکننده به‌ویژه گوسفندان ایران وجود دارد. در پژوهش حاضر، اگر چه غلظت کلسیم و فسفر (جدول 4) به-طور معنی‌داری در طی زمان افزایش یافت (P = 0/02)، اما تفاوت قابل‌توجهی بین میانگین غلظت کلسیم و فسفر در گروه‌های آزمایشی (به‌ترتیب کلسیم و فسفر: شاهد 8/82، 5/92؛ روی-متیونین 9/07، 6/26؛ سولفات روی 9/03، 6/04 میلی‌گرم در دسی‌لیتر) مشاهده نشد. این افزایش غلظت در طی زمان می‌تواند به‌علت افزایش مصرف این مکمل‌ها به‌واسطه‌ی افزایش خوراک مصرفی در طی آزمایش باشد. به‌نظر می‌رسد غلظت بالاتر کلسیم سرم در بره‌های گروه سولفات روی در مقایسه با گروه شاهد در هفته 6 آزمایش ناشی از اثر مکمل-های روی نباشد، زیرا همان‌طور که بیان‌شد بین میانگین غلظت کلسیم گروه‌های آزمایشی تفاوتی وجود نداشت. همچنین، با وجودی-که افزایش کلسیم جیره سبب کاهش جذب روی می‌شود (28)، اما گزارشی مبنی بر کاهش جذب کلسیم با افزایش غلظت روی جیره در دام‌های نشخوارکننده مشاهده نشد.

میانگین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گروه شاهد، روی-متیونین و سولفات روی به‌ترتیب 1148، 1360 و 1310 واحد در هر گرم هموگلوبین (خطای استاندارد 71/7 واحد) بود که حکایت از بهبود فعالیت این آنزیم در بره‌های تغذیه‌شده با مکمل‌های روی بود. با وجود این، به‌لحاظ آماری، تنها تفاوت فعالیت آنزیمی خون بره‌های گروه روی-متیونین در مقایسه با شاهد معنی‌دار بود (P = 0/04).

جدول4- غلظت کلسیم و فسفر سرم خون (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) بره‌های تغذیه‌شده با مکمل‌های روی[1]

Table 3- Serum calcium and phosphorous concentrations of lambs fed zinc supplements[1]

فراسنجه Parameter	زمان (هفته) Time (Week)	گروه آزمایشی Experimental group: شاهد Control	روی-متیونین Zn-Met	سولفات روی $ZnSO_4$	SEM	P-Value: تیمار Trt	زمان Time	تیمار*زمان Trt*Time
کلسیم (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) Ca (mg dl^{-1})						0.45	0.02	0.49
	0	8.9	9.1	9.0	0.14			
	3	8.3	8.8	8.5	0.29			
	6	8.6^{b}	9.2^{ab}	9.4^{a}	0.29			
	9	9.4	9.2	9.2	0.29			
فسفر(میلی‌گرم در دسی‌لیتر) P (mg dl^{-1})						0.73	0.02	0.37
	0	5.5	5.3	4.8	0.35			
	3	5.7	5.4	5.6	0.43			
	6	5.7	6.3	6.3	0.43			
	9	6.2	6.9	6.1	0.43			

[1]میانگین‌های هر ردیف با حروف غیرمشترک دارای اختلاف می‌باشند (P < 0/05).

[1]Means within the same row with different superscripts differ (P < 0.05).

طبق یافته‌های این آزمایش (جدول 5)، بره‌های گروه روی-متیونین در هفته 9 (P = 0/01) و گروه سولفات روی در هفته 6 (P = 0/03) فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز خون بالاتری در مقایسه با گروه شاهد داشتند که این خود بر تغییرات زمانی فعالیت آنزیمی دلالت دارد. به‌علت این‌که در اکثر مطالعات در دو مرحله یکی در ابتدا و دیگری در انتهای آزمایش خون‌گیری انجام می‌شود، اطلاعات دقیقی در رابطه با نوسانات فعالیت این آنزیم در طی زمان در دسترس نیست. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز که به عناصر مس، منگنز و روی وابسته است، از طریق خنثی‌سازی رادیکال‌های سوپراکسید نقش مهمی در حفاظت سلول در برابر تخریب توسط عوامل اکسیدانت بازی می‌کند، بنابراین کمبود این عناصر سبب کاهش فعالیت آن می‌شود (14). در رابطه با تاثیر مکمل‌های روی بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، مطابق با نتایج این آزمایش، تغذیه مکمل‌های آلی و معدنی روی سبب افزایش فعالیت این آنزیم در خون گاوهای شیری هلشتاین شد (24) در حالی‌که در گوساله‌ها (11) تفاوتی بین گروه‌های دریافت‌کننده روی با شاهد مشاهده نشده است.

نوع حیوان، مرحله‌ی تولید آن و نوع و مقدار مکمل استفاده‌شده ازجمله دلایل تفاوت نتایج مطالعات انجام‌شده در این زمینه می‌باشد.

آنزیم آلکالین فسفاتاز، که جهت انجام فعالیت خود به عنصر روی وابسته است، نیز از شاخص‌های مهم برای تعیین وضعیت روی خون و متابولیسم آن می‌باشد و غلظت‌های پایین آن در حیوانات دچار کمبود عنصر روی مشاهده شده است (28). دامنه‌ی فعالیت این آنزیم بسیار متغیر و وابسته به سن و شرایط فیزیولوژیک حیوان است به‌طوریکه میزان آن با افزایش سن کاهش می‌یابد. در پژوهش حاضر، افزایش چشمگیر فعالیت این آنزیم در گروه‌های روی-متیونین (0/02 = P) و سولفات روی (0/01 = P) در مقایسه با شاهد در هفته 3 آزمایش مشاهده شد. شباهت تغیرات زمانی فعالیت این آنزیم به تغیرات غلظت روی (افزایش قابل توجه غلظت روی و فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در گروه‌های دریافت‌کننده روی و تفاوت‌شان با گروه شاهد) می‌تواند مویّد وابستگی فعالیت این آنزیم به عنصر روی باشد (28). میانگین مقدار این آنزیم در کل دوره آزمایش در گروه شاهد، روی-متیونین و سولفات روی به ترتیب 59/0، 72/7 و 83/0 واحد در لیتر (با خطای استاندارد 4/23 واحد) بود که دو گروه دریافت‌کننده مکمل‌های روی فعالیت آنزیمی بالاتری درمقایسه با شاهد داشتند (P < 0/05). در رابطه با تاثیر مکمل‌های روی بر فعالیت آلکالین فسفاتاز در گوسفند نتایجی یافت نشد. با این‌حال اسپیرز (26) عدم تاثیر مکمل‌های روی بر فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در گوساله‌های نر اخته را گزارش کرد در حالی‌که افزایش فعالیت این آنزیم در نتیجه‌ی تغذیه با مکمل‌های روی در گوساله‌های بوفالو مشاهده شد (17).

جدول5- فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و آلکالین فسفاتاز خون بره‌های تغذیه‌شده با مکمل‌های روی[1]

Table 5- Blood superoxide dismutase (SOD) and alkaline phosphatase (ALP) activities of lambs fed zinc supplements[1]

فراسنجه Parameter	زمان (هفته) Time (Week)	گروه آزمایشی Experimental group: شاهد Control	روی-متیونین Zn-Met	سولفات روی $ZnSO_4$	SEM	P-Value: تیمار Trt	زمان Time	تیمار*زمان Trt*Time
سوپراکسید دیسموتاز (واحد در گرم هموگلوبین) SOD (U g^{-1}Hb)						0.05	0.009	0.01
	0	1150.7	1175.0	1262.0	79.61			
	3	1119.2	1278.8	1231.0	79.20			
	6	1152.5^{b}	1274.0^{ab}	1416.2^{a}	79.20			
	9	1192.0^{b}	1524.3^{a}	1285.0^{ab}	79.20			
آلکالین فسفاتاز (واحد در لیتر) ALP (U l^{-1})						0.04	0.001	0.07
	0	33.3	32.4	32.8	6.82			
	3	37.7^{b}	66.2^{a}	69.0^{a}	7.66			
	6	61.5^{b}	69.6^{ab}	87.8^{a}	7.66			
	9	77.8	82.4	92.3	7.66			

[1]میانگین‌های هر ردیف با حروف غیرمشترک دارای اختلاف می‌باشند (P < 0/05).

[1]Means within the same row with different superscripts differ (P < 0.05).

غلظت گلوکز خون تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت اما در طی زمان افزایش یافت (P < 0001)، به‌طوری‌که غلظت گلوکز سرم خون (جدول 6) در هفته 6 و 9 بالاتر از هفته 3 در همه‌ی گروه‌های آزمایشی بود (P < 0/05). نتایج پژوهش‌های مختلف حاکی از پاسخ‌های متفاوت گلوکز خون دام‌ها به مکمل‌های روی است. افزایش غلظت گلوکز خون از طریق تغییر در فعالیت مسیرهای بیوشیمیایی دخیل در گلوکونئوژنز در پاسخ به مصرف جیره‌های حاوی 0/12 درصد روی-متیونین در بزها گزارش شد (16) در حالی‌که در آزمایش انجام‌شده در گوسفند، مصرف مکمل روی-متیونین تاثیری بر غلظت گلوکز خون نداشت (5). همچنین استفاده از مکمل روی در موش سبب کاهش غلظت گلوکز خون شد (22). غلظت پروتئین تام نیز در طی زمان افزایش یافت (P < 0/05)، اما تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. به‌نظر می‌رسد افزایش گلوکز و پروتئین تام خون در طی زمان ناشی از بهبود وضعیت تغذیه‌ای دام‌ها در طی آزمایش در مقایسه با قبل از آن، که از مراتع فقیر چرا می‌کردند، باشد.

جدول6- غلظت گلوکز و پروتئین تام خون بره‌های تغذیه‌شده با مکمل‌های روی[1]

Table 6- Blood glucose and total protein concentrations of lambs fed zinc supplements[1]

فراسنجه Parameter	زمان (هفته) Time (Week)	گروه آزمایشی Experimental group: شاهد Control	روی-متیونین Zn-Met	سولفات روی $ZnSO_4$	SEM	P-Value: تیمار Trt	زمان Time	تیمار*زمان Trt*Time
گلوکز (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) Glucose (mg dl^{-1})						0.69	<0.0001	0.44
	0	42.8	39.5	40.4	3.51			
	3	43.6	40.0	42.5	3.70			
	6	53.8	56.6	49.6	3.70			
	9	58.3	51.3	55.7	3.70			
پروتئین‌تام (گرم در دسی‌لیتر) Total protein (g dl^{-1})						0.39	0.001	0.79
	0	6.66	6.17	6.98	0.275			
	3	6.41	6.55	7.00	0.283			
	6	6.85	7.13	7.30	0.283			
	9	7.25	7.40	7.49	0.283			

[1]میانگین‌های هر ردیف با حروف غیرمشترک دارای اختلاف می‌باشند (P < 0/05).

[1]Means within the same row with different superscripts differ (P < 0.05).

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی نتایج این آزمایش نشان داد که، سطح روی سرم خون بره‌های کرمانی قبل از تغذیه با مکمل‌های روی-متیونین و سولفات روی پایین‌تر از حد نرمال بود و تغذیه مکمل‌های روی به میزان 40 میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک (با غلظت روی 48 و مس 11/7 میلی‌گرم در کیلوگرم جیره پایه)، سبب بهبود غلظت سرمی روی به‌ویژه در 3 هفته نخست تغذیه شد. با وجود رابطه آنتاگونیستی روی با مس، استفاده از مکمل روی تاثیر منفی بر غلظت مس خون نداشت. همچنین سطوح عناصر کلسیم و فسفر خون تحت تاثیر مکمل‌های روی قرار نگرفت. مکمل روی-متیونین در مقایسه با سولفات روی، اثر بهتری بر بهبود فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز گذاشت. تغذیه هر دو مکمل آلی و معدنی روی سبب افزایش فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز شد و سطوح گلوکز و پروتئین تام سرم خون در پاسخ به تغذیه این مکمل‌ها تغییر نکرد.

منابع

1- Agricultural Research Council (ARC). 1980. The nutrient requirements of ruminant livestock. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, London.

2- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2002. Official methods of analysis. 16th ed. AOAC International, Arlington, VA.

3- Chhabra, J. K, and S. P. Arora. 1985. Effect of Zn deficiency on serum vitamin A level, tissue enzymes and histological alterations in goats. Livestock Production Science, 12: 69-77.

4- Garcia-Ispierto, I., F. Lopez-Gatius, P. Santolaria, J. L. Yaniz, C. N. Nogareda, M. Lopez-Bejar, and F. DeRenesis. 2006. Relationship between heat stress during the pre-implantation period and early fetal loss in dairy cattle. Theriogenology, 65:799-807.

5- Jafarpour, N., M. Khorvash, H. R. Rahmani, A. Pezeshki, and M. Hosseini Ghaffari. 2015. Dose-responses of zinc-methionine supplements on growth, blood metabolites and gastrointestinal development in sheep. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 99: 668-675.

6- Jia, W., Z. Jia, W. Zhang, R. Wang, S. Zhang, and X. Zhu. 2008. Effects of dietary zinc on performance, nutrient digestibility and plasma zinc status in Cashmere goats. Small Ruminant Research, 80: 68-72.

7- Khan, S. A. 1978. Interaction of copper and zinc and its influence on the metabolism of major nutrients in growing calves. PhD Thesis. Aligarh Muslim University, Aligarh, India.

8- Kun, B., S. Weili, L. Chunyi, W. Kaiying, L. Zhipeng, B. Shidan, and L. Guangyu. 2015. Effects of dietary zinc supplementation on nutrient digestibility, haematological biochemical parameters and production performance in male Sika deer (*Cervus nippon*). Animal Production Science, 56: 997-1001.

9- Malcolm-Callis, K. J., G. C. Duff, S. A. Gunter, E. B. Kegley, and D. A. Vermeire. 2000. Effects of supplemental zinc concentration and source on performance, carcass characteristics, and serum values in finishing beef steers. Journal of Animal Science, 78: 2801-2808.
10- Mallaki, M., M. A. Norouzian, and A. A. Khadem. 2015. Effect of organic zinc supplementation on growth, nutrient utilization, and plasma zinc status in lambs. Turkish Journal of Veterinary and Animal Science, 39: 75-80.
11- Mandal, G. P., R. S. Dass, A. K. Garg, V. P. Varshney, and A. B. Mondal .2008. Effect of zinc supplementation from inorganic and organic sources on growth and blood biochemical profile in crossbred calves. Journal of Animal Feed Science, 17:147-156.
12- Mousaie, A., R. Valizadeh, A. A. Naserian, M. Heidarpour, and H. Kazemi Mehrjerdi. 2014. Impacts of feeding selenium-methionine and chromium-methionine on performance, serum components, antioxidant status and physiological responses to transportation stress of Baluchi ewe lambs. Biological Trace Element Research, 162: 113-123.
13- National Research Council (NRC). 1985. Nutrient requirements of domestic animals. Nutrient requirements of sheep. National Academy Press. Washington, D.C., USA.
14- National Research Council (NRC). 2005. Mineral tolerance of animals. 2th edition, National Academy Press. Washington, D.C., USA.
15- Pal D.T., N. K. S. Gowda, C. S. Prasad, R. Amarnath, U. Bharadwaj, G. Suresh Babu, and K. T. Sampath. 2010. Effect of copper- and zinc-methionine supplementation on bioavailability, mineral status and tissue concentrations of copper and zinc in ewes. Journal of Trace Element in Medicine and Biology, 24: 89-94.
16- Pi, Z. K., Y. M. Wu, and J. X. Liu. 2005. Effect of pretreatment and pelletization on nutritive value of rice straw-based total mixed ration, and growth performance and meat quality of growing Boer goats fed on TMR. Small Ruminant Research, 56: 81-88.
17- Ramulu, SP., D. Nagalakshmi, and M. Kishan Kumar. 2015. Effect of zinc supplementation on haematology and serum biochemical constituents in Murrah buffalo calves. Indian Journal of Animal Research, 49: 482-486.
18- Rezazadeh Zavoshti, F., S. Asri Rezaei, A. B. Sioofy-Khojine, and A. A. Heidary. 2012. Correlation of zinc and copper values in the blood serum of Makuii sheep. Comparative Clinical Pathology, 21: 1263-1267.
19- Salama Ahmed, AK., G. Cajat, E. Albanell, X. Snch, and R. Caslas. 2003. Effects of dietary supplements of zinc-methionine on milk production, udder health and zinc metabolism in dairy goats. Journal of Dairy Research, 70: 9-17.
20- SAS Institute, 2003. SAS Users' Guide. Version 9.1. SAS Institute Inc., Cary, NC.
21- Sevi, A., G. Annicchiarico, M. Albenzio, L. Taibi, A. Muscio, and S. Dell'Aquila. 2001. Effects of solar radiation and feeding time on behavior, immune response and production of lactating ewes under high ambient temperature. Journal of Dairy Science, 84: 629-640.
22- Shisheva, A., D. Gefel, and Y. Shechter. 1992. Insulin like effects of zinc ion in vitro and in vivo: preferential effects on desensitized adipocytes and induction of normoglycemia in streptozotocin-induced rats. Diabetes, 41: 982-988.
23- Shrivas, K. and N. K. Jaiswal. 2013. Dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of copper in cereals and vegetable food samples using flame atomic absorption spectrometry. Food Chemistry, 141: 2263-2268.
24- Sobhanirad, S., and A. A. Naserian. 2012. Effects of high dietary zinc concentration and zinc sources on hematology and biochemistry of blood serum in Holstein dairy cows. Animal Feed Science and Technology, 177: 242-246.
25- Spears, J.W. 2003.Trace mineral bioavailability in ruminants. Journal of Nutrition. 133: 1506S-1509S.
26- Spears, J. W., P. Schegel, M. C. Seal, and K. E. Lloyd. 2004. Bioavailability of zinc from zinc sulphate and different zinc sources and their effects on ruminal volatile fatty acid proportions. Livestock Production Science, 90: 211-217.
27- Sun, Y., L. W. Oberley, and Y. Li. 1988. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. Clinical Chemistry, 34: 497-500.
28- Underwood, E. J., and N. F. Suttle. 1999. Zinc. In: The Mineral Nutrition of Livestock. 3rd ed. pp 477–512. CABI Publishing, New York.
29- Van Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, 74: 3583-3587.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 11, No. 3, Fall 2019, p. 319-329

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد 11، شماره 3، پاییز 1398، ص. 329-319

Dietary organic and inorganic zinc supplements in Kermani male lambs: Impacts on serum minerals, antioxidant status and some blood parameters.

A. Mousaie[1*]

Received: 11-11-2017
Accepted: 10-07-2018

Introduction Sheep production in arid and semi-arid parts of Iran undergoes feed shortage due to poor natural vegetation. Trace minerals, as metabolic modifiers, are essential in ruminants' diets because of their contribution in biochemical processes required for normal growth and development. Zinc (Zn) is one of the most deficient minerals in soils of many parts of the world including Iran. Zinc is known to affect growth, reproduction and immune system of the animals. Although administration of Zn supplements in ruminants' diets has been receiving increased attention in recent years, however, it is not well-established that how much of Zn supplement is more effective for improving fattening lambs' performance, metabolism and antioxidant status. Furthermore, there are a few information about blood minerals of Kermani sheep. Thus, the aim of this study was to evaluate the likely effects of different Zn sources on some blood parameters related to animal health and production.

Materials and Methods This study was conducted at the Research Station of Department of Animal Sciences, University of Jiroft, Iran. Twenty-one Kermani male lambs (7 months of age, 28 ± 0.9 kg of body weight) were assigned to 1 of 3 following treatments (7 lambs each) for 9 weeks in a completely randomized design: (1) Control diet; (2) Control diet plus supplemental zinc-methionine (Zn-Met, 40 mg/kg dry matter (DM)) and (3) Control diet plus supplemental zinc sulfate (ZnSO4, 40 mg/kg DM). Two weeks adaptation period to basal diet was done before the experimental period. Basal diet contained 48 and 11.7 mg/kg DM of Zn and Cu respectively. Blood samples were collected before commencement (time 0), and at weeks 3, 6 and 9 of the experiment. Serum minerals and metabolites concentrations and whole blood superoxide dismutase activity (SOD) were measured. Maximum air temperature and minimum relative humidity data were used to calculate the temperature-humidity index (THI). Statistical analysis was carried out using SAS software. A mixed model with fixed effects of treatment, week and treatment × week, as well as the random effect of lamb within treatment × week were used. Time of sampling (week) was used as a repeated effect and subject for the repeated statement was lamb within dietary treatment. Where biologically worthwhile and significant, the initial values for blood metabolites (before supplementation (time 0)) and initial body weight were included in model as a covariate to further improve the analysis precision. The significant differences were declared and tendencies.

Results and Discussion Based on the findings, Kermani male lambs of this study had deficient blood Zn contents (under 90 µg dl-1) before the commencement of the experiment. Lambs on Zn-Met- and ZnSO4-supplemented diets had higher serum average Zn concentrations than those on the control diet ($P<0.05$). Serum Zn content showed a time-dependent trend so that Zn-supplemented groups had higher Zn concentrations at week 3 in spite of weeks 6 and 9 of the experiment ($P<0.05$). The concentrations of serum calcium, phosphorous and copper were not affected by the treatments. However, calcium and phosphorous increased by time ($P=0.02$). Dietary Zn supplementation of lambs, irrespective of its source, led to increased average blood alkaline phosphatase activity (ALP) which was more obvious in week 3 of the experiment ($P<0.05$). This similar trend between Zn and ALP contents through time may imply to the close association between blood Zn concentration with ALP activity. Lambs on Zn-Met-supplemented diet exhibited improved SOD activity comparing those on the control diet ($P<0.05$). These findings, suggesting that at least the supplemented Zn is being incorporated in the system, resulting in increased SOD activity. Serum glucose and total protein concentrations increased during time ($P<0.01$) but no differences were observed among experimental groups.

Conclusion These results indicated the beneficial effects of dietary Zn supplementation of 40 mg/kg diet for increasing serum Zn concentration and alkaline phosphatase activity of male lambs. Zn-Met was more effective than ZnSO4 for improving antioxidant status. In addition, no adverse effects of Zn supplementation on serum copper, calcium, phosphorous, glucose and total protein concentrations were observed. Additionally, some blood parameters such as Zn concentration and ALP activity revealed a time-dependent variation in this study which

1- Assistant professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Jiroft, Jiroft, Iran
(*-Corresponding Author Email: moosaee.amir@gmail.com)

suggests that repeated blood sampling may be more appropriate than endpoint sampling particularly in respect to blood metabolites.

Key words: Kermani lamb, Minerals, Superoxide dismutase, Zinc supplement

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 11, No. 3, Fall 2019, p. 331-340

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد 11، شماره 3، پاییز 1398، ص. 340-331

تاثیر لیزین و بتائین جیره بر خصوصیات گوشت و استخوان جوجه‌های گوشتی تحت آسیت القایی سرمایی

عباس علی‌پناه[1]، محسن دانشیار[2*]، پرویز فرهومند[3]، غلامرضا نجفی[4]

تاریخ دریافت: 1396/06/13
تاریخ پذیرش: 1397/05/01

چکیده

اثرات لیزین و بتائین بر کیفیت و کمیت گوشت و استخوان جوجه‌های گوشتی تحت آسیت، با استفاده از 300 قطعه جوجه گوشتی یکروزه ماده سویه راس 308 در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تیمار و پنج تکرار بررسی شد. تیمارهای آزمایشی شامل جیره شاهد (جیره بر پایه ذرت- سویا بدون افزودنی)، لیزین به مقدار30 درصد بالاتر از توصیه راهنمای پرورش راس 308، بتائین در سطح 0/15 درصد جیره و لیزین 30 درصد بالاتر از مقدار سطوح توصیه شده و بتائین 0/15 درصد بودند. برای القای آسیت در پرندگان، دما در سنین 7، 14 و 21 روزگی به ترتیب به 26 °C، 20C ° و 15 °C کاهش داده شد و بعد از 21 روزگی در محدوده 15 C ° تا آخر دوره حفظ شد. نتایج نشان داد که مصرف لیزین و بتائین به تنهایی یا توأم باعث افزایش وزن بدن، وزن نسبی لاشه، سینه و ران شد (P<0/05). چربی حفره بطنی با مصرف بتائین به تنهایی یا همراه با لیزین کاهش پیدا کرد (P<0/05). جیره‌های حاوی لیزین و بتائین به تنهایی یا توأم باعث کاهش تلفات آسیت و نسبت وزن بطن راست به کل بطن گردید (P<0/05). رطوبت، پروتئین، چربی، خاکستر، pH و رنگ گوشت سینه و گوشت ران تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (P>0/05). تیمارهای آزمایشی تاثیری بر خاکستر، کلسیم و فسفر یا ابعاد استخوان به‌جز قطر استخوان درشت‌نی نداشتند (P<0/05). به طور کلی، مصرف بتائین و لیزین موجب بهبود عملکرد، کمیت (وزن لاشه، ران و سینه) و کیفیت لاشه (کاهش چربی حفره بطنی) وتلفات ناشی از آسیت در جوجه‌های گوشتی شد.

واژه‌های کلیدی: آسیت، استخوان، بتائین، رنگ گوشت، لیزین.

مقدمه

جوجه‌های گوشتی امروزی به دلیل سرعت بالای رشد و افزایش نیاز به اکسیژن و عدم تناسب بین سیستم قلبی- عروقی و تنفسی با اندازه کل بدن بیشتر مستعد آسیت هستند (13و16). تعادل و کیفیت پروتئین جیره با کاهش سطح ازت مازاد از طریق تامین سطوح اسیدهای آمینه ضروری (لیزین، متیونین، تریپتوفان و غیره) و کاهش نیاز به اکسیژن در کاهش بروز آسیت موثر است (7و8). لیزین و بتائین چون اسمولیت کننده‌های طبیعی هستند به سرعت به وسیله سلول جذب شده و حرکت آب را در سلول تحت تاثیر قرار می‌دهند. این ترکیبات تاثیر منفی بر فعالیت سلول وآنزیم‌های حیاتی ندارند و می توانند نقش موثری در کاهش اثرات منفی تنش‌های محیطی از طریق تنظیم فشاراسمزی وحفظ سلول داشته باشند. لیزین و بتائین احتمالا از طریق ساخت ال‌کارنتین می‌توانند باعث افزایش پروتئین سازی، در نتیجه کاهش چربی لاشه، کاهش نیاز به اکسیژن جهت سوخت و ساز و کاهش بروز آسیت شوند (11و21). لیزین در ساخت استخوان، پوست، کلاژن، الاستین و بافت‌های پیوندی نقش موثری دارد و کمبود آن سبب کاهش رشد بدن و کاهش رشد استخوان شده و در بروز ناهنجاری پا موثر است (11). مصرف 40 درصد بیشتر از سطح توصیه شده سویه راس (2016) اسیدهای آمینه لیزین ومتیونین باعث کاهش چربی حفره شکمی، بهبود ضریب تبدیل خوراک و افزایش گوشت سینه، ران و درصد لاشه شده است (5). بتائین به

1- دانش آموخته دکتری تغذیه طیور، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
2- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
3- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
4- دانشیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه
(*-ایمیل نویسنده مسئول: m.daneshyar@urmia.ac.ir)
Doi:10.22067/ijasr.v11i3.67255

عنوان تنها دهنده مستقیم گروه متیل، نقش مهمی در تامین این گروه در بدن دارد. در نتیجه نیاز به سایر متیل دهنده‌ها از جمله متیونین را کاهش می‌دهد و لذا می‌تواند به عنوان یک دهنده متیل نقش کمکی داشته باشد. قابلیت جایگزینی بتائین با متیونین به دلیل توانایی بتائین در انتقال یک گروه متیل به هموسیستئین و تبدیل آن به متیونین است (23). استفاده از بتائین در جیره جوجه‌های گوشتی و بوقلمون می‌تواند میزان گوشت سینه را حدود سه درصد بهبود بخشد (10و20). مصرف یک و نیم گرم بتائین درکیلوگرم جیره باعث افزایش سه درصد گوشت سینه (از طریق بهبود متابولیسم چربی) شده است و به نظر می‌رسد به علت شرکت آن در سنتز ال‌کارنیتین باشد (25). کیفیت گوشت و رنگ آن در جوجه‌های گوشتی تحت تاثیر عوامل زیادی از قبیل سویه (15) فصل، زمان کشتار و تنش‌های محیطی قرار می‌گیرد (17). تنش سرمایی و القای آسیت باعث افزایش رادیکال‌های آزاد و در نتیجه کاهش سطح آنتی اکسیدان‌های خون و افزایش اکسیداسیون غشای سلولی وهمچنین نشت مایع داخل سلولی و رنگ پریدگی عضلات می‌گردد. اکسیداسیون لیپیدها از علل عمده زوال و کیفیت عضلات ساختاری هستند و به صورت غیر مستقیم کیفیت، طعم و رنگ گوشت را تغییر می‌دهند و باعث تحلیل عضلات می‌شوند (6). رنگ گوشت، یکی از خواص مهم کیفی برای پذیرش توسط مصرف کنندگان است و مقادیر فراسنجه‌های L، a وb به ترتیب نشان دهنده روشنی، قرمزی و زردی گوشت می‌باشند(4و18). کمبود اکسیژن منجر به افزایش تعداد گلبول قرمز (3) و افزایش درصد هماتوکریت و هموگلوبین خون می‌شود (9). ظهور ناهنجاری پا در جوجه‌های گوشتی مبتلا به آسیت گزارش و مشخص شده است که کمبود لیزین سبب کاهش ساخت مواد آلی استخوان شده و در بروز ناهنجاری پا موثر است (11). همچنین لیزین از طریق افزایش جذب کلسیم از روده و در نتیجه کاهش دفع آن از طریق مدفوع می‌تواند در توسعه استخوان‌سازی نقش داشته باشد (8) و لذا مصرف آن سبب کاهش اثرات منفی تنش سرمایی بر ساخت استخوان می‌شود. بنابراین هدف از پژوهش اخیر، بررسی تاثیر لیزین و بتائین بر خصوصیات گوشت و وضعیت استخوان جوجه‌های گوشتی تحت آسیت القایی با سرما بود.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق، از 300 قطعه جوجه گوشتی یک روزه ماده (سویه راس 308) با وزن متوسط 2±40 گرم در چهار گروه مجزا در قالب طرح کاملا تصادفی استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل تیمار شاهد (بدون افزودنی)، لیزین (130 درصد توصیه راس)، بتائین (0/15 درصد جیره) و لیزین همراه با بتائین (لیزین130 درصد توصیه راس و بتائین 0/15 درصد جیره) بودند. جوجه‌های هر گروه در پنج قفس (15 جوجه در هر تکرار) توزیع شدند. سطوح لیزین و بتائین ذکر شده به جیره شاهد (پایه) اضافه شدند.. قبل از شروع پژوهش، ترکیب شیمیایی و محتوای اسیدهای آمینه قابل هضم تمام مواد خوراکی در شرکت ایوانیک دگوسا(تهران) با دستگاه (NIRFooss 500 made in Danmark)آنالیزگردید و جیره بر اساس مقادیر اسیدهای آمینه قابل هضم بر اساس نیاز سویه راس و توسط نرم افزار(Amino feed) تنظیم و اماده شد. و از یک روزگی تا سن 42 روزگی مورد مصرف پرندگان قرار گرفتند.

برای القای تنش سرمایی دما درسنین 7، 14 و 21 روزگی به ترتیب به 26°C، 20 °C و 15 °C کاهش داده شد و بعد از 21 روزگی در محدوده 15 °C تا آخر دوره حفظ شد (13). در این روش، دمای مورد استفاده در سالن پایین‌تر از دمای پیشنهادی برای سویه راس بود و این دمای پایین منجر به افزایش فشار متابولیکی در پرنده و در نتیجه کمبود اکسیژن و القای آسیت گردید (13). پرندگان درطول دوره به آب وخوراک دسترسی آزاد داشتند و با جیره‌های توصیه شده برای سویه راس و بر پایه ذرت- سویا تغذیه شدند (جدول 1). در پایان دوره آزمایش (42 روزگی)، خوراک مصرفی، رشد روزانه، تلفات و ضریب تبدیل خوراکی محاسبه شد. جهت بررسی خصوصیات کمی و کیفی گوشت، دو پرنده از هر تکرار در42 روزگی کشتار شد و سپس وزن لاشه، گوشت سینه و ران، بقیه لاشه و وزن بطن راست و کل بطن با ترازوی با دقت 0/001 گرم اندازه گیری و درصد لاشه و گوشت سینه و ران محاسبه گردید. دو سری نمونه از ران و سینه تهیه شد و در دمای 20°C- نگه‌داری شد. یک سری از این نمونه‌ها جهت تعیین مواد مغذی گوشت شامل پروتئین، چربی، خاکستر و ماده خشک با روش‌های استاندارد AOAC اندازه‌گیری شدند (1). اسیدیته گوشت توسط pH متر (D-55122 Mainz., Germay) دیجیتال بعد از هموژنیزه کردن گوشت در آب مقطر اندازه گیری شد (2). سری دوم نمونه‌های گوشت برای بررسی رنگ گوشت سینه و ران استفاده شد. فراسنجه‌های روشنی (L)، قرمزی (a) و زردی (b) رنگ گوشت توسط دستگاه Minolta (Chronometer CR-400, Japan) اندازه‌گیری شد. این دستگاه، میزان روشنی رنگ گوشت طیور را به صورت روشن کم رنگ (L>53) ، عادی (48<L<51) و تیره (46>L) در نظر می‌گیرد (19). فراسنجه‌های استخوانی طول و قطر استخوان اندازه‌گیری و مواد معدنی(کلسیم، فسفر، خاکستر وماده خشک) با روش‌هایAOAC سال 2002 اندازه‌گیری شد (1). داده‌های بدست آمده با استفاده از رویه GLM با نرم افزارSAS نسخه (9/1) تجزیه و تحلیل شدند. مقایسه میانگین‌ها نیز توسط آزمون توکی در سطح 5 درصد انجام گرفت. از آزمون نرمالیته برای بررسی نرمال بودن داده‌ها استفاده شد، داده‌های مربوط به چربی حفره شکمی، نسبت بطن راست به کل بطن که نرمال نبودند با استفاده از تبدیل جذری نرمال شدند.

جدول 1- جیره‌های آزمایشی پایه

Table1- Experimental basal diets

اجزای جیره (%) Feeds ingredients	آغازین (10-1روزگی) Starter (1-10 day)	رشد (24-11روزگی) Grower (11-24 day)	پایانی (42-25روزگی) Finisher (25-42 day)
دانه ذرت (Corn)	44.029	52.05	58.445
کنجاله گلوتن (Corn Gluten meal)	9.409	-_	-_
کنجاله دانه سویا (Soybean meal)	39.369	40.078	34.319
روغن سویا (Soybean oil)	2.392	3.815	3.397
دی کلسیم فسفات (Di-calcium phosphate)	2.223	1.956	1.811
کربنات کلسیم (Calcium carbonate)	1.219	0.969	0.955
ال-لیزین (L-Lysine)	0.242	0.029	0.020
دی-ال متیونین (DL-Methionine)	0.214	0.245	0.207
مکمل ویتامینی[1] Vitamin permix	0.25	0.25	0.25
مکمل مواد معدنی[2] Mineral premix	0.25	0.25	0.25
نمک (Salt)	0.255	0.326	0.326
جوش شیرین (Baking soda)	0.149	0.031	0.020
مواد مغذی اندازه گیری شده جیره (٪) Dietary determined nutrients (%)			
ماده خشک (Dry Matter)	89.801	89.535	89.170
انرژی قابل متابولیسم (کیلو کالری بر کیلو گرم) Metabolize Energy (Kcal/kg)	2950	3000	3050
چربی خام (Crude Fat)	4.294	5.799	5.581
کلسیم (Calcium)	1.027	0.880	0.831
فسفر قابل دسترس (Available phosphorous)	0.491	0.440	0.411
پتاسیم (Potassium)	1.0	0.9	0.9
سدیم (Sodium)	0.167	0.162	0.158
متیونین قابل هضم (Methionine digestible)	0.613	0.542	0.481
لیزین قابل هضم (Lysine digestible)	1.341	1.123	0.984
متیونین – سیستین قابل هضم (Methionine + Cysteine digestible)	0.987	1.388	0.759
ترئونین قابل هضم (Threonine digestible)	0.895	0.755	0.678
تریپتوفان قابل هضم (Tryptophan digestible)	0.254	0.237	0.210

1- هر کیلوگرم جیره حاوی: ویتامین آ: 9000 واحد بین المللی، ویتامین ای65: واحد بین المللی ویتامین د: 5000 واحد بین المللی، ویتامین کا80: واحد بین المللی ، سیانوکوبالامین: 15/0 میلی گرم، ریبوفلاوین: 6/6 میلی گرم ، کلسیم پانتونات: 10 میلی گرم، نیاسین: 30 میلی گرم، کولین 500 میلی گرم، بیوتین: 1/0 میلی گرم، تیامین: 8/1 میلی گرم، پیرودوکسین، 3 میلی گرم، اسید فولیک: 1 میلی گرم، ویتامین منادیون: 2 میلی گرم، آنتی اکسیدان (اتوکسی کوئین): 100 میلی گرم، بود.

2- هر کیلوگرم جیره حاوی: منگنز: 100 میلی گرم، روی: 50 میلی گرم، مس: 10 میلی گرم، آهن: 50 میلی گرم، ید: 1 میلی گرم، سلنیوم: 0/2 میلی گرم بود.

1- Vitamin premix per kg of diet: vitamin A 9000IU ; vitamin E 65 IU ; vitamin D 5000IU ; vitamin K 80IU ; cyano cobalamin 15 mg ;riboflavin6.6mg ; calcium panthothenat10mg ; choline500mg ; biotin1mg; thiamin 8.1mg ; pyridoxine3mg ; folic acid1mg ; antioxidant100mg.

2-Mineral premix per kg of diet: mn 100mg ;zn 50mg ; cu 10mg ; fe 50mg ; I 1mg ;se .2mg.

نتایج و بحث

لیزین و بتائین به تنهایی و با هم منجر به کاهش مصرف خوراک، ضریب تبدیل خوراک، درصد تلفات آسیت و نسبت وزن بطن راست به کل بطن و بهبود افزایش وزن روزانه نسبت به تیمار شاهد شدند (P<0/05؛ جدول 2). خصوصیات لاشه جوجه‌های گوشتی در جدول 3 نشان داده شده است. بتائین به تنهایی و همراه با لیزین منجر به کاهش چربی محوطه بطنی گردید (P<0/05). درصد گوشت سینه و ران جوجه‌های شاهد پایین‌تر از مقادیر مربوط به جوجه‌های تغذیه شده با لیزین و بتائین بود (P<0/05). پرندگان تغذیه شده با بتائین دارای گوشت سینه بیشتری نسبت به پرندگان دریافت کننده لیزین بودند. مصرف بتائین به تنهایی و همراه با لیزین باعث افزایش درصد لاشه در مقایسه با جیره شاهد گردید (P<0/05).

جدول2- تاثیر لیزین و بتائین بر فراسنجه‌های عملکردی و قلبی جوجه‌های گوشتی تحت آسیت سرمایی در سن 42 روزگی[1]

Table 2- Effects of lysine and betaine on performance and heart indices of broiler chickens under cold induced ascites at 42 days of age[1]

تیمارها Treatments	افزایش وزن (گرم در روز) Weight gain (g/d)	(گرم مصرف خوراک در روز) Feed intake (g/d)	ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio	نسبت بطن راست به کل بطن Right ventricle to whole ventrical	درصد تلفات آسیت Ascites mortality %
شاهد Control	34.07 b	93.99 a	2.76 a	0.38 a	39.99 a
لیزین Lysine	38.98 a	83.24b	2.14 b	0.26 b	25.33 b
بتائین Betaine	39.40 a	84.54 b	2.14 b	0.25 b	21.33 b
لیزین و بتائین Lysine and Betaine	38.78 a	84.90 b	2.20 b	0.24 b	24.00 b
SEM	0.682	1.234	0.073	0.021	2.280
P-value	0.0062	0.0008	0.0001	0.0001	0.0057

[1] در هر ردیف میانگین های دارای حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌داری با هم می باشند (P<0/05).

[1] Means within same row with different superscripts differ (p< 0.05)

در این پژوهش مصرف لیزین و بتائین باعث بهبود درصد وزن لاشه، سینه و ران، سرعت رشد روزانه، ضریب تبدیل خوراک، کاهش چربی حفره بطنی، درصد تلفات و مصرف خوراک گردید. اگرچه تحقیقی در رابطه با تاثیر مصرف لیزین و بتائین در آسیت ناشی از تنش سرمایی بر درصد لاشه و سینه و ران و چربی حفره بطنی انجام نشده است. ولی گزارش شده است که تنش‌های محیطی باعث کاهش دسترسی عضلات بدن (سینه و ران) به اسیدهای آمینه (گلیسین، لیزین، متیونین و سیستئین) می‌شوند و در نتیجه کاهش تولید عضلات را در بدن باعث می‌شوند (12). با بررسی اثرات پروتئین خوراک و سطوح مختلف لیزین بر عملکرد جوجه‌های گوشتی، خصوصیات لاشه و دفع نیتروژن مشخص شده است که افزایش مصرف لیزین در دوره آغازین باعث بهبود وزن و مقدار گوشت سینه می‌گردد (11). در نتیجه به نظر می‌رسد که مکمل کردن اسیدآمینه لیزین در شرایط تنش بتواند تا حدی منجر به بهبود عملکرد گردد. همچنین لیزین به همراه سایر اسیدهای آمینه، پروتیئن‌سازی را تسهیل و به حفظ تعادل نیتروژن و تولید انرژی در بدن کمک می‌کند (11). لیزین درساخت ال‌کارنیتین (که درانتقال اسیدهای چرب از سیتوپلاسم به داخل میتوکندری دخالت دارد) نقش دارد و لذا کمبود آن سبب کاهش اکسیداسیون اسیدهای چرب در میتوکندری و افزایش ذخیره چربی در لاشه می‌شود. این اسید آمینه بیشترین غلظت را در سلولهای عضلات دارد یعنی محل ذخیره لیزین آزاد در بدن عضلات هستند؟. کمبود لیزین می‌تواند باعث تحلیل عضلات شود (8). لیزین از اسیدهای آمینه کتوژنیک بوده و با تبدیل شدن به استیل کوآ در متابولیسم کربوهیدرات‌ها و تولید انرژی نقش دارد. همچنین لیزین به‌عنوان یک کاتیون داخل سلولی (مانند پتاسیم) عمل می‌کند و در تنظیم فشار اسمزی سلول نقش دارد (8). گزارش شده است که بتائین باعث افزایش سه درصدی گوشت سینه در جوجه‌های گوشتی و بوقلمون می‌شود که این اثر به خاصیت متیل دهندگی آن و جایگزین شدن آن با میتونین نسبت داده شده است و در نتیجه سهم بیشتری از متیونین در مسیر سنتز پروتئین و رشد قرار می‌گیرد. بتائین، همچنین تشکیل و ساخت اسید آمینه میتونین از هموسیستیئن در کبد را افزایش داده و به جذب بهتر اسید آمینه لیزین و میتونین به خصوص در شرایط تنش‌های محیطی کمک می‌کند (5و20). بتائین به کمک دو ویژگی عمده خود یعنی تنظیم فشار

اسمزی و خاصیت متیل دهندگی می‌تواند بر افزایش درصد گوشت سینه در طیور نقش داشته باشد. آب به دلیل اهمیتی که در سنتز پروتئین و سایر نقش‌های حیاتی دیگر دارد، حدود 75 درصد ساختمان عضلات را تشکیل می‌دهد و نقش کلیدی در تنظیم سوخت و ساز سلولهای بدن دارد. به این صورت که تغییر میزان آب موجود در سلول بر توانایی و پتانسیل رشد و سلامتی سلول تأثیر می‌گذارد. فعالیت پرنده برای تنظیم و کنترل تعادل آب سلول بر پایه فعالیت پمپ‌های یونی استوار است که این امر انرژی‌بر است و بتائین به عنوان یک ماده تنظیم کننده فشار اسمزی به حفظ تعادل آب درون سلولی کمک می‌نماید. در نتیجه، وجود بتائین در خوراک باعث می‌شود تا پرنده کمتر به فعالیت پمپ‌های یونی وابسته و متکی باشد و لذا ابقاء آب در داخل سلول نیز مؤثرتر صورت می‌گیرد و انرژی مورد نیاز برای تأمین نیاز نگه داری پرنده کاهش یافته و انرژی مازاد جهت رشد و تولید مورد استفاده قرار می‌گیرد. به‌علاوه، بتائین موجب سنتز پروتئین و در نتیجه رشد عضلات از طریق حفظ آب داخل سلولی می‌گردد. همچنین بتائین به کمک خاصیت متیل دهندگی خود و شرکت در سنتز ترکیبات مهمی نظیر پروتئین، DNA و RNA تولید گوشت سینه را افزایش می‌دهد (22). در نتیجه وجود بتائین در خوراک باعث می‌شود که سهم بیشتری از متیونین صرف سنتز پروتئین و رشد عضلات شود. متابولیسم بتائین در بدن موجب تولید اسید آمینه گلیسین می‌شود که از اسیدهای آمینه مهم درسنتز پروتئین و رشد عضلات است. همانند لیزین، بتائین نیز در ساخت ال‌کارنیتین دارای نقش بوده و لذا به اکسیداسیون اسیدهای چرب در بدن کمک می‌کند (22و25). مصرف بتائین به تنهایی و همراه با لیزین می‌تواند در کاهش چربی حفره بطنی تاثیر گذار باشد. لذا مصرف لیزین و بتائین موجب بهبود سرعت وزن گیری، ضریب تبدیل خوراک، درصد وزن لاشه، سینه، ران و کاهش نسبت وزن بطن راست به کل بطن، مصرف خوراک و درصد تلفات گردید. به نظر می‌رسد که کاهش نسبت وزن بطن راست به کل بطن به دنبال مصرف لیزین و بتائین در تحقیق اخیر ناشی از کاهش مصرف خوراک باشد. کاهش مصرف خوراک یکی از روشهای کاهش بروز آسیت و تلفات است که توسط محققان زیادی تائید شده است (10و11).

جدول3- تاثیر لیزین وبتائین بر خصوصیات لاشه جوجه‌های گوشتی تحت آسیت سرمایی در سن 42 روزگی[1]

Table 3- Effects of lysine and betaine on carcass characteristics of broiler chickens under cold induced ascites at 42 days of age[1]

تیمارها Treatments	لاشه (%) Carcass	گوشت سینه (٪) Breast meat	گوشت ران (٪) Thigh meat	چربی حفره شکمی(٪) Abdominal fat
شاهد Control	59.54 b	18.84 c	17.26 b	1.06 b
لیزین Lysine	65.71 ab	22.47 b	22.02 a	1.04 b
بتائین Betaine	66.86 a	26.16 a	21.28 a	0.59 a
لیزین و بتائین Lysine and Betaine	66.77 a	23.48 ab	20.63 a	0.86 a
SEM	1.031	0.692	0.500	0.071
P-value	0.02	0.0001	0.0003	0.049

[1] در هر ردیف میانگین های دارای حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌داری با هم می باشند (P<0/05).

[1] Means within same row with different superscripts differ (p< 0.05)

جدول 4، مقادیر مواد مغذی (رطوبت، پروتئین و چربی) و pH گوشت ران و سینه جوجه‌های گوشتی را نشان می‌دهد. مواد مغذی گوشت تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی در سن 42 روزگی قرار نگرفت (P>0/05). همچنین pH گوشت در هر دو عضله سینه و ران نیز تحت تاثیر مصرف لیزین و بتائین قرار نگرفت (P>0/05). تاکنون هیچ تحقیقی در رابطه با اثرات این دو افزودنی بر میزان مواد مغذی جوجه‌های گوشتی تحت آسیت صورت نگرفته است ولی به طور مشابهی، اضافه نمودن بتائین به جیره جوجه‌های گوشتی و آلوده با کوکسیدیوز تاثیری بر درصد پروتئین و چربی لاشه نداشته است (22). همچنین در شرایط تنش گرمایی نیز مصرف نیم تا دو درصد بتائین تاثیری بر مواد مغذی (رطوبت، پروتئین و چربی) و pH گوشت لاشه در جوجه‌های گوشتی نشان نداده است (2).

جدول4- مواد مغذی (رطوبت، پروتئین و چربی) و pH گوشت سینه و ران جوجه‌های تغذیه شده با لیزین و بتائین تحت آسیت سرمایی در سن 42 روزگی

Table 4- Nutrients (moisture, protein and fat) and pH of breast and thigh meat of broiler chickens fed with lysine and betaine under cold induced ascites at 42 days of age

تیمارها Treatments	PH	رطوبت (٪) Moisture	پروتئین (%) Protein	چربی (٪) Fat
گوشت ران Thigh meat				
شاهد Control	5.74	65.22	18.63	14.72
لیزین Lysine	5.78	65.86	17.53	15.92
بتائین Betaine	5.78	64.03	19.13	15.94
لیزین و بتائین Lysine and Betaine	5.83	64.40	18.24	16.03
SEM	0.02	0.33	0.24	0.34
P-value	0.19	0.19	0.14	0.49
گوشت سینه Breast meat				
شاهد Control	5.88	67.62	24.30	7.05
لیزین Lysine	5.98	67.38	24.36	7.32
بتائین Betaine	5.93	66.15	24.70	8.16
لیزین و بتائین Lysine and Betaine	5.92	65.50	24.84	8.61
SEM	0.032	0.390	0.224	0.262
P-value	0.31	0.16	0.81	0.11

جدول 5، میزان فراسنجه‌های رنگ (زردی، قرمزی و روشنی) گوشت ران وسینه جوجه های گوشتی را نشان می‌دهد. هیچکدام از فراسنجه‌های رنگ (زردی، قرمزی و روشنی) گوشت سینه تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی در سن 42 روزگی قرار نگرفت (P>0/05). فراسنجه‌های رنگ (زردی، قرمزی و روشنی) گوشت ران نیز همانند گوشت سینه تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی در سن 42 روزگی قرار نگرفت (P>0/05). کیفیت گوشت و رنگ آن درجوجه های گوشتی تحت تاثیر عوامل زیادی از قبیل فصل، زمان کشتار و تنش‌های محیطی قرار می‌گیرند (17). شاخص‌های روشنی، قرمزی و زردی رنگ گوشت به‌خصوص شاخص زردی بیشتر تحت تاثیر میوگلوبین قرار می‌گیرند و شاخص روشنی دارای همبستگی منفی با ظرفیت نگهداری آب است (4). لذا به نظر می‌رسد که به دلیل عدم تغییرات میوگلوبین و یا ظرفیت نگهداری آب، شاخص‌های رنگ گوشت در تحقیق اخیر تحت تاثیر افزودن لیزین یا بتائین قرار نگرفته‌اند.

جدول 6، مقادیر مربوط به فراسنجه‌های استخوان درشت نی جوجه‌های گوشتی را نشان می‌دهد. جوجه‌های تغذیه شده با لیزین قطر استخوان درشت نی بیشتری در مقایسه با جوجه‌های شاهد داشتند (P<0/05). کاهش قطر استخوان درشت نی می‌تواند در نتیجه تنش سرمایی باشد که باعث افزایش متابولیسم بدن شده است و در نتیجه کاهش اسیدیته پلاسما و اسیدوز را به دنبال داشته است و این پدیده اثرات منفی بر قابلیت تولید شکل فعال ویتامین D_3 دارد (8). همچنین کاهش اسیدیته پلاسما و اسیدوز موجب کاهش رشد صفحه استخوانی و کاهش قطر استخوان درشت نی شده است (14).گزارش شده است که کاهش جذب کلسیم وعدم تعادل مواد معدنی در پرندگان مواجه با آسیت باعث کوچک شدن استخوان‌ها وافزایش ناهنجاری پا می‌شود (14و 24). نشان داده شده است که لیزین به جذب کلسیم از روده کمک می‌کند و در نتیجه دفع آن در مدفوع را به حداقل می‌رساند و در توسعه استخوان سازی نقش دارد. پس احتمالاً سبب کاهش اثرات منفی تنش سرمایی بر ساخت استخوان می‌شود و کمبود لیزین سبب کاهش رشد اندامها از جمله استخوان شده و بر بروز ناهنجاری پا موثر است (8).

جدول5- تاثیر لیزین و بتائین بر فراسنجه‌های رنگ گوشت ران و سینه جوجه‌های گوشتی تحت آسیت سرمایی در سن 42 روزگی

Table 5- Effects of lysine and betaine obreast and thigh meats color indices of broiler chickens under cold induced ascites at 42 days of age

تیمارها Treatments	روشنایی Lightness	زردی Yellow	قرمزی Redness
گوشت ران Thigh meat			
شاهد Control	45.72	3.96	5.13
لیزین Lysine	45.02	3.80	4.91
بتائین Betaine	44.95	4.61	4.90
لیزین و بتائین Lysine and Betaine	45.51	4.74	4.51
SEM	0.284	0.161	0.130
P-value	0.75	0.90	0.38
گوشت سینه Breast meat			
شاهد Control	43.92	6.48	5.47
لیزین Lysine	43.80	7.32	4.50
بتائین Betaine	41.78	6.25	4.66
لیزین و بتائین Lysine and Betaine	42.75	5.51	3.69
SEM	0.844	0.432	0.372
P-value	0.81	0.56	0.43

جدول6- تاثیر لیزین و بتائین بر فراسنجه‌های استخوانی جوجه‌های گوشتی تحت آسیت سرمایی در سن 42 روزگی[1]

Table 6- Effects of use lysine and betaine on bone indices of broiler chickens under cold induced ascites at 42 days of age[1]

تیمارها Treatments	ماده خشک (%) Dry matter	خاکستر(٪) Ash	فسفر(٪) Phosphorous	کلسیم (٪) Calcium	طول درشت نی (سانتیمتر) Tibia Longitude (cm)	قطردرشت نی (سانتیمتر) Tibia diameter (cm)	خمیدگی پا (٪) Leg curvature
شاهد Control	71.19	47.20	15.53	30.65	9.10	6.00 [b]	16.00
لیزین Lysine	68.51	44.71	16.04	31.88	8.70	7.34 [a]	10.66
بتائین Betaine	62.18	47.32	17.49	31.85	8.74	7.04 [ab]	10.66
لیزین و بتائین Lysine and Betaine	61.34	46.82	18.45	31.96	8.82	6.94 [ab]	13.33
SEM	1.492	0.991	0.801	0.760	0.090	0.173	1.141
P-value	0.06	0.79	0.59	0.93	0.36	0.02	0.26

[1]در هر ردیف میانگین های دارای حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌داری با هم می باشند (P<0/05).

[1] Means within same row with different superscripts differ (P< 0.05)

نتیجه گیری کلی

به طور کلی، مصرف لیزین و بتائین موجب بهبود عملکرد، کمیت و کیفیت لاشه و همچنین کاهش تلفات آسیت در جوجه‌های گوشتی می‌گردد ولیبرمواد مغذی(رطوبت، پروتئین و چربی) pH، و

فراسنجه‌های رنـگ گوشـت ران و گوشـت سـینه و فراسـنجه‌هـای استخوانی(بغیر از قطراستخوان درشت نی) تاثیری ندارد.

منابع

1- AOAC International. 2002. Official Methods of Analysis. 15 th Edn. Association of official analytical chemists Washington, DC.USA.

2- Azizmesgari, Z., M. Daneshyar and A. Aghazadeh. 2017. Effects of betaine on performance, some blood indices, antioxidant status and internal organ weights of broiler chickens under heat stress. Journal of Veterinary Research, 73, 3: 297-304.

3- Arab, H., A. Jamshidi., G. Rassouli, and M. Hasanadeh. 2006. Generation of hyd roxyl radicals during ascites experimentally. British Poultry Science, 47: 216-222.

4- Boulianne, M. and A.J. King. 1998. Meat color and biochemical characteristics of unacceptable dark-colored broiler chicken carcasses. Journal Food Science, 63: 759-762.

5- Bouyeh, M. 2012. Effect of Excess Lysine and Methionine on Immune system and Performance of Broilers. Annals of Biological Research, 3: 3218-3224.

6- Buclely, D.J., P.A. Morrissey, and J. Gray. 1995. Influence of dietary vitamin E on the oxidative stability and quality of pig meat. Journal Animal Science, 71: 3122-31305.

7- Decuypere, E., J. Buyse, and N. Buys. 2000. Ascites in broiler chickens: exogenous and endogenous structural and functional causal factors. World's Poultry Science, 56: 367-377.

8- Dmello, J.P.F. .2003. Amino acids in animal nutrition. 2nd ed Formerly of the Scottish Agricultural College Edinburgh U K, CABI Publishing, 187-281.

9- Druyan, S., D. Shinder., A. Shlosberg., A. Cahaner, and S. Yahav. 2009. Physiological parameters in broiler lines ascites. Poultry Science, 88: 1984-1990.

10- Esteve-Garcia, E, and M. stefan .2000. The effect of DL-methionine and betaine on growth perfoemance and carcass characteristics in broilers. Animal Feed Science and Technology, 850: 83-97.

11- Franco, J., A. Murakami., M. Natali., E. Garcia, and A. Furlan .2006. Influence of delayed placement and dietary lysine levels on small intestine morphometrics and performance of broilers. Revista Brasileira Ciencia Avicola, PP; 8.

12- Henken, A.M., A. M. J. Groote Schaarsberg, and W. Vanderhel. 1983. The effect of environmental temperature on immune response and metabolism of the young chicken. 4. Effect of environmental temperature on some aspects of energy and protein metabolism. Poultry Science, 62: 59-67.

13- Julian, R.J. 1993. Ascites in poultry. Avian Pathology, 22: 419-454.

14- Julian, R.J. 1998. Rapid growth problems: ascites and skeletal deformities in broilers. Poultry Science, 77: 1773-1780.

15- Kralik, G., I. Djurking., Z. Kralik., S. Zoran, and Z. Radisic. 2014. Quality indicators of broiler breast meat in relation to color. Animal Science Papers and Reports, 32: 173-178.

16- Luger, D., D. Shinder., V. Rzepakovsky., M. Rusal, and S. Yahav. 2001. Association between weight gain, blood parameters, and thyroid hormones and the development of ascites syndrome in broiler chickens. Poultry Science, 80: 965-971.

17- Petracci, M., M. Betti., M. Bianch, and C. Cavani. 2004. Color Variation and characterization of broiler breast meat durig processing hn Italy. Poultry Science, 83: 2086-2092.

18- Pirmohamammadi, A., M. Daneshyar, P. Farhoomand, J. Aliakbarlu, and F. Hamian. 2016. Effects of Thymus vulgaris and Mentha pulegium on colour, nutrients and peroxidation of meat in heat-stressed broilers. South African Journal of Animal Science, 46: 278-284.

19- Qiao, M., D.L. Fletcher., J.K. Northcutt, and D.P. Smith. 2008. The relationship between raw broiler breast meat color and composition. Poultry Science, 81: 422-427.

20- Remus, J. 2001. Betaine for increased breast meat yield in turkeys. World Poultry, 17: 1-2.

21- Rezaei, M., A. Attar., A. Ghodratnama, and H. Kermanshahi. 2007. Study the effects of different levels of fat and l-carnitine n performance, caracass characteristics and serum composition of broiler chicks. Pakistan Journal of Biological Science, 10: 1970-1976.

22- Tucker, L.A. and J. Remus. 2001. The effect of betaine on performance, water balance and gut integrity of coccidiosis-infected poultry and its potential benefit in AGP-free diets. British Poultry Science, 42: 108-109.

23- Wang, Y., Z. Xu, and J. Feng. 2004. The effect of Betaine and methionine on growth performance and carcass characteristics in meat duck. Animal Feed Science Technology, 1116: 151-159.

24- Wolfenson, D., D. Sklan, Y. Graber., O. Kedar., I. Bengal, and S. Hurwitz. 1987. Absorption of protein, fatty acids and minerals in young turkeys under heat and cold stress. British Poultry Science, 28: 739-42.

25- Zhan, X. A. X., J. Li, and Q. Zhao. 2006. Effects of methionine and Betaine supplement on growth performance, carcass composition and metabolism of lipids in male broiler. British Poultry Science, 47: 576-580.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 11, No. 3, Fall 2019, p. 331-340

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد 11، شماره 3، پاییز 1398، ص. 340-331

Effects of Dietary Lysine and Betaine on Meat and Bone Characteristics of Broiler Chickens Under Cold Induced Ascites

A. Alipanah[1], M. Daneshyar[2*], P. Farhoomand[3], G. H. Najafi[4]
Received: 04-09-2017
Accepted: 23-07-2018

Introduction Nowadays commercial broiler strains need more oxygen for the faster growth and higher meat production and are susceptible to ascites syndrome due to higher growth rate. Ascites is a metabolic disorder that causes the increased free radical production, decreased level of body antioxidant capacity and hence meat muscles destruction, pale color and lower quality. It damages the gut morphology and reduces the absorption of amino acids and minerals and as a result leg problems. Lysine and betaine are nature osmotic nutrients and control the water status in the absorptive cell and so protect the cell during the conditions of ascites. Thus lysine and betaine may help the synthesis of protein, lowering the carcass fat, change the oxygen needs and results in ascites in broiler chickens. Therefore, the purpose of this study was to investigate the effect of lysine and betaine on meat characteristics and bone condition of broiler chicks under cold induced ascites.

Material and Methods Three hundred one-day-old female chicks (Ross 308) were used by employing a completely randomized design with 4 treatments and 5 replicates (10 birds for each replicate) to investigate the effects of lysine and betaine alone or together on carcass quantity and quality of broiler chickens under ascites. The experimental diets were the control diet (corn-soybean basal diet without the supplement), 30% higher lysine than Ross 308 strain recommendation, 0.15% beatine and 30% higher lysine and 0.15% betaine. The dietary ingredients were analyzed for energy, crude protein and essential amino acids by NIR. All chickens were raised under cold stress from day 7 of age to induce the ascites. To induce cold stress, a temperature of 31 ° C was used in the first week but the temperature on 7, 14, and 21 days was reduced to 26 ° C, 20 ° C and 15 ° C, respectively After 21 days, it lasted from 15 ° C to the end of the period. At 42 days of age, daily intake and feed conversion and ascites mortality rates were calculated. Two bird from each replicate were randomly selected, weighted and slathered. After slaughter, the proportional weights of carcass, breast, thigh and right ventricle were determined with a precision scale of 0.001 gr. Moreover, thigh and breast meat samples were collected from the slaughtered birds and used for laboratory analysis of nutrients, acidity and the color indices. All the data were analyzed using the GLM procedure of SAS (Version 9.1) software. If there was a significant difference between the treatments, then the means were further compared by Tukey-Kramer range test at a 5% level.

Results and discussion The results showed that both the lysine and betaine alone or together caused the higher weight gain and the proportional weights of carcass, breast and thigh ($P<0.05$). Abdominal fat decreased by consumption of betaine alone or along with lysine ($P<0.05$). Both the lysine and betaine alone or together caused the decreased feed consumption, feed conversion, ascites mortality and right ventricle to total ventricle ratio ($P<0.05$). The moisture, crude protein, crude fat, ash of both breast and thigh meat were not affected by the experimental treatments ($P>0.05$). Moreover, thigh or breast meat pH and color indices (lightness, redness and yellowness) were not changed by dietary lysine or betaine supplementation ($P>0.05$). None of the experimental treatments affected the bone indices (ash, calcium and phosphorous) but the tibia diameter which was increased by dietary lysine supplementation ($P<0.05$). It seems that dietary lysine and betaine consumption in broiler chickens adjust the osmotic pressure in gastrointestinal cells and hence protect these cells under stress condition such as the cold situation of current experiment and thus help for the higher L-carnitine synthesis in body. The higher L-carnitine production results in lower carcass fat and greater protein synthesis and improved carcass efficiency (higher breast and thigh meat production). Consequently, body oxygen requirements and right ventricle to total ventricle ratio reduced and this causes the lower ascites mortality.

Conclusion The consumption of betaine and lysine improves the performance, carcass quantity (increased

1- PhD, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Urmia University,
2- Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Urmia University,
3- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Urmia University,
4- Associate Professor, Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University.
(*-Corresponding Author Email: m.daneshyar@urmia.ac.ir)

carcass, and thigh and breast weights) and quality (decreased abdominal fat weight), and ascites mortality of broiler chickens. Moreover, no effects of lysine and betaine were detected on meat nutrient contents, pH and color indices and bone parameters.

Key words: Ascites, Betaine, Bone, Lysine, Meat color.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 11, No. 3, Fall 2019, p. 341-352

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد 11، شماره 3، پاییز 1398، ص. 352-341

اثرات پیش‌مخلوط مواد معدنی بر عملکرد، پر درآوری، خصوصیات استخوان درشت‌نی و میزان تجمیع عناصر معدنی در سرم و پر جوجه‌های گوشتی

سلیمان محمدی[1]، حسن درمانی کوهی[2*]، نوید قوی حسین زاده[2]

تاریخ دریافت: 1396/07/14
تاریخ پذیرش: 1397/07/15

چکیده

این آزمایش در یک دوره 42 روزه با استفاده از 200 قطعه جوجه گوشتی سویه راس 308 در قالب طرح کاملاً تصادفی با 5 تیمار و 4 تکرار و هر تکرار با 10 قطعه جوجه به منظور ارزیابی اثرات سطوح مختلف مواد معدنی بر عملکرد، خصوصیات استخوان درشت‌نی، پر درآوری و میزان تجمیع عناصر معدنی در سرم و پر جوجه‌های گوشتی انجام شد. جیره‌های آزمایشی شامل: 1- جیره شاهد (بدون پیش مخلوط مواد معدنی) و 2، 3، 4 و 5 جیره‌های حاوی پیش مخلوط مواد معدنی در سطوح 25، 50، 75 و 100 درصد سطح پیشنهادی بودند. افزایش وزن و خوراک مصرفی روزانه در گروه-های مکمل شده در مقایسه با تیمار شاهد بیشتر و ضریب تبدیل خوراک کمتر بود، ولی بین تیمارهای دریافت‌کننده پیش مخلوط این تفاوت‌ها معنی‌دار نشد. در خصوص استخوان درشت‌نی فراسنجه‌هایی از قبیل قطر، طول و حجم تحت تأثیر پیش مخلوط مواد معدنی قرار گرفت و تیمارهای دریافت‌کننده پیش مخلوط تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نشان دادند، ولی وزن نسبی، چگالی و درصد خاکستر تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. میزان پوشش پر در تیمارهای دریافت‌کننده پیش مخلوط افزایش یافت و به موازی آن میزان پارگی و آسیب‌دیدگی پرهای نواحی دم و بال کاهش یافت. غلظت سرمی کلسیم و غلظت‌های پتاسیم و روی در پر با استفاده ار پیش‌مخلوط موادمعدنی افزایش یافت، ولی عناصری از قبیل منگنز، سدیم، فسفر، کروم و نیکل تحت تأثیر قرار نگرفتند. اگرچه تفاوت معنی‌داری در رابطه با خصوصیات عملکردی و فراسنجه‌های مرتبط با استخوان درشت‌نی جوجه‌های مکمل‌شده با سطوح متفاوت پیش مخلوط مواد معدنی مشاهده نشد اما با توجه به تاثیرپذیری وضعیت پردرآوری جوجه‌های گوشتی، استفاده از پیش مخلوط در سطح 100 درصدی به منظور اطمینان از تامین نیازمندی‌ها پیشنهاد می شود.

واژه‌های کلیدی: پر درآوری، جوجه گوشتی، عناصر معدنی کم‌نیاز، وضعیت پر درآوری.

مقدمه

مواد معدنی فقط 4 تا 6 درصد وزن بدن حیوانات مهره‌دار را تشکیل می‌دهد ولی به علت نقش‌های گوناگون آن‌ها در اعمال حیاتی بدن، اهمیت آن‌ها در بیوشیمی تغذیه فراوان است. عناصرمعدنی در بدن ساخته نمی‌شوند اما در هورمون‌ها، آنزیم‌ها، بافت‌ها و مایعات بدن وجود دارند و بنابراین باید توسط جیره غذایی تأمین شوند (9).

بافت اسکلتی پرنده نه تنها برای حفظ ساختار بدن ضروری است بلکه منبع ذخیره‌ای مهمی برای مواد معدنی در مواقع ضروری به شمار می‌رود. در این ارتباط، تأمین مقدار کافی مواد معدنی از طریق جیره غذایی و یا افزودن مکمل‌هایی که بتوانند میزان جذب مواد معدنی را افزایش دهند از مهم‌ترین عوامل تغذیه‌ای مؤثر بر کیفیت استخوان است (2). پارامترهای استخوان به‌عنوان شاخصی در ارتباط با وضعیت تغذیه‌ای طیور در تحقیقات تغذیه‌ای مورد استفاده قرارگرفته و می‌گیرد (20 ، 25 و 26). در ضمن، بررسی خصوصیات مربوط به استخوان یکی از معیارهای مرسوم برای ارزیابی کیفیت جیره‌های غذایی ازجمله مواد معدنی است (26). روش‌های مختلفی برای تعیین وضعیت معدنی شدن استخوان وجود دارد. در این میان می‌توان از تعیین خاکستر استخوان، نقطه شکست، وزن استخوان، حجم استخوان و تعیین چگالی استخوان نام برد (3).

غلظت سرمی عناصر معدنی در بیشتر مواقع با مقدار آن‌ها در

1- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشگاه گیلان، گیلان- ایران
2- دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه گیلان، گیلان- ایران
(* - نویسنده مسئول: h.darmani@guilan.ac.ir)
Doi:10.22067/ijasr.v11i3.67680

کل بدن مطابقت ندارد زیرا غلظت آن‌ها در خون توسط مکانیسم هومئوستازی کنترل می‌شود. به همین علت، روش‌های رایج آزمایشگاهی برای ارزیابی وضعیت عناصر معدنی بدن، بدون توجه به سایر اطلاعات ممکن است ارزش محدودی داشته باشند (9 و 22). برخلاف خون، غلظت موادمعدنی در مو و پر از ثبات بیشتری بر خوردار بوده و از تراکم بیشتری برخوردار هستند (3 ، 7 و 22).

در تولید تجاری جوجه‌های گوشتی و مرغان تخم‌گذار اغلب نگرانی در مورد میزان پوشش و کیفیت پر وجود دارد. فقدان پوشش مناسب پر می تواند منجر به آسیب‌های پوستی از جمله کوفتگی و عفونت شده و منجر به افزایش در نیازمندی انرژی برای نگهداری و بنابراین کاهش در راندمان استفاده از خوراک شود. افزایش در مرگ و میر، کاهش تولید تخم مرغ و افزایش در تولید تخم مرغ‌های شکسته با وضعیت پردرآوری در مرغان تخم‌گذار در ارتباط است. هم‌چنین شروع نوک زنی و کانیبالیسم در ارتباط با کمبودهای جیره-ای بوده به طوری که کاهش در کانیبالسیم و پرخواری با استفاده از مکمل جیره-ای عناصر کم‌نیاز و سدیم گزارش شده‌است (14، 15 و 18). رشد و توسعه پر تحت کنترل هورمون‌هایی نظیر تیروکسین، استروژن و تستوسترون است. بنابراین شرایط محیطی و تغذیه‌ای تاثیرگذار روی وضعیت هورمونی پرنده می تواند بر نرخ پردرآوری موثر باشد (15 و 18). تغذیه علاوه بر تاثیرگذاری بر نرخ پردرآوری می تواند ساختار، رنگ و غلظت مواد معدنی پر را تحت تأثیر قرار دهد (15). پروفایل مواد معدنی مو یا پر می‌تواند بیانگر میزان عناصری باشد که از طریق جریان خون در اختیار این بافت‌ها قرار گرفته و در آن‌ها ذخیره می‌شود (9 و 15). لذا، هدف از انجام تحقیق حاضر بررسی اثر استفاده از سطوح مختلف پیش مخلوط مواد معدنی در جیره و اثر آن بر عملکرد، کیفیت استخوان درشت‌نی، وضعیت پر درآوری و غلظت‌های مواد معدنی سرم خون و پر به‌عنوان دو شاخص بیولوژیکی تاثیرپذیر از محتوای مواد معدنی جیره جوجه‌های گوشتی بوده‌است.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در مرغداری دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان در طی ماه‌های مهر، آبان و آذر سال 1394 به منظور ارزیابی اثرات سطوح مختلف مواد معدنی بر پر درآوری و میزان تجمیع عناصر معدنی در سرم و پر جوجه‌های گوشتی با استفاده از 200 قطعه جوجه گوشتی سویه راس 308 در قالب طرح کاملاً تصادفی با 5 تیمار و 4 تکرار و هر تکرار با 10 قطعه جوجه انجام شد. جیره پایه مورد استفاده در این آزمایش بر اساس توصیه سویه تجاری راس 308 فرموله گردید. جیره‌های آزمایشی شامل: 1) جیره پایه (جیره شاهد: بدون مکمل پیش مخلوط مواد معدنی)، 2) جیره پایه حاوی مکمل پیش مخلوط مواد معدنی در سطح 25 درصد سطح پیشنهادی مکمل تجاری در اختیار (2/5 کیلوگرم در تن)، 3) جیره پایه حاوی مکمل پیش مخلوط مواد معدنی در سطح 50 درصد سطح پیشنهادی، 4) جیره پایه حاوی مکمل پیش مخلوط مواد معدنی در سطح 75 درصد سطح پیشنهادی و 5) جیره پایه حاوی مکمل پیش مخلوط مواد معدنی در سطح 100 درصد سطح پیشنهادی، بودند (جدول 1).

در طی آزمایش، افزایش وزن و خوراک مصرفی به صورت دوره‌ای اندازه‌گیری و براساس اندازه‌گیری‌های انجام شده ضریب تبدیل خوراک محاسبه شد. بعد از اتمام دوره آزمایش و در روز کشتار (روز 42)، استخوان درشت‌نی چپ دو جوجه نر برداشته شد. پس از جدا کردن بافت‌های اضافی از استخوان درشت‌نی و قرار دادن آن در کیسه پلاستیکی زیپ‌دار، استخوان‌ها در دمای 20- سانتی‌گراد نگهداری شدند. استخوان درشت‌نی پس از یخ گشایی در دمای اتاق با ترازوی با دقت 0/001 توزین و داده‌های مربوط ثبت گردید. نمونه‌های استخوان درشت‌نی بعد از یخ گشایی در استوانه مدرج 200 میلی‌لیتری حاوی آب معمولی قرار داده شد و بر اساس تفاوت بین میزان سطح آب اولیه و آب بالاآمده در استوانه، حجم استخوان (سانتی‌متر مکعب) به دست آمد. قطر و طول استخوان‌های درشت‌نی با کولیس با دقت 0/01 در قسمت وسط استخوان (اپی‌فیز) اندازه‌گیری شد. چگالی استخوان درشت‌نی (گرم بر سانتی‌متر مکعب)، از تقسیم وزن استخوان درشت‌نی (گرم) به حجم آن (سانتی‌متر مکعب)، به دست آمد. به‌منظور تعیین درصد خاکستر، نمونه‌های استخوان درشت‌نی بعد از آسیاب کردن و قرار گرفتن در بوته چینی به داخل کوره در دمای 600 درجه سانتی‌گراد به مدت 24 ساعت قرار داده شد.

در 40 روزگی از هر قفس 2 پرنده نر که وزن آن ها به میانگین آن قفس نزدیک بود انتخاب و از بخش‌های مختلف بدن آن‌ها (قسمت‌های بال، دم و پشت) با دوربین پایه‌دار بافاصله و بزرگ‌نمایی یکسان عکس گرفته شد. از عکس‌های تهیه‌شده جهت نمره‌دهی وضعیت پراستفاده شد. جهت نمره دهی از دو الگوی ارایه شده در جدول 2 استفاده شد (17). جهت اندازه‌گیری مواد معدنی سرم خون و پر در روز کشتار (روز 42) از هر تکرار از دو قطعه جوجه نر که وزن‌شان میانگین وزنی تکرار مربوطه بود نمونه خون و پر در حالت ناشتا تهیه شد. بعد از تهیه نمونه‌های سرم، نمونه‌ها در دمای اتاق به مدت 24 ساعت نگهداری و سپس در آزمایشگاه به مدت 15 دقیقه و در دور 3000 سانتریفوژ شدند. سرم جداشده به داخل میکرو تیوب 1/5 ریخته شد و در دمای 80- نگهداری شد. برای آنالیز مواد معدنی سرم خون، سرم بعد ازخارج‌کردن از فریزر یخ گشایی و از هر نمونه به میزان 0/5 میلی‌لیتر با سمپلر برداشته شد.

جدول 1- اجزا تشکیل‌دهنده جیره‌های غذایی پایه مورداستفاده در دوره آغازین، رشد و پایانی[1]

Table 1- Ingredients and chemical composition of the basal diets[1]

اقلام جیره (درصد) Ingredients (%)	آغازین Starter	رشد Grower	پایانی Finisher	ترکیبات مواد مغذی محاسبه‌شده Calculated composition	آغازین Starter	رشد Grower	پایانی Finisher
دانه ذرت Corn	53.31	56.15	59.61	انرژی قابل متابولیسم kcal kg^{-1} Metabolizable energy, kcal kg^{-1}	2870	3000	3080
کنجاله سویا،44٪ پروتئین Soybean meal, 44% CP	39.26	35.72	31.90	پروتئین خام Crude protein	21.82	20.48	19.06
روغن سویا Soybean oil	2.83	4.16	4.73	لایزین قابل‌هضم	1.20	1.05	0.93
دی کلسیم فسفات Dicalsium phosphate	2.00	1.78	1.68	کلسیم % Calcium%	1.00	0.86	0.82
پودر آهک Calcium carbonate	1.18	0.95	0.93	فسفر قابل‌هضم % Available phosphorus%	0.47	0.43	0.40
نمک خوراکی Common salt	0.36	0.29	0.30	سدیم % Sodium%	0.16	0.16	0.16
ال- لیزین هیدرو کلراید L-Lysine HCl, 78%	0.18	0.08	0.04	پتاسیم % Digestible lysine	0.91	0.85	0.79
دی ال- متیونین DL-Methionine, 98%	0.30	0.24	0.20	متیونین قابل‌هضم Digestible methionine	0.60	0.52	0.47
ال- ترئونین L-Threonine, 99%	0.08	0.03	0.01	متیونین+سیستئین قابل‌هضم Digestible methionine + cystine	0.89	0.80	0.73
پریمیکس ویتامینی[2] Vitamin premix[2]	0.25	0.25	0.25	ترئونین قابل‌هضم Digestible threonine	0.79	0.70	0.63
سدیم بیکربنات Sodium bicarbonate	0.00	0.10	0.10				
مجموع Total	100	100	100				

[1]به منظور ساخت تیمارهای آزمایشی مقادیر 0، 25، 50، 75 و 100 درصد از سطح پیشنهادی پیش‌مخلوط مواد معدنی (2/5 کیوگرم در تن) به جیره پایه اضافه شد. هر 2/5 کیلوگرم از مکمل معدنی شامل: 99200 میلی‌گرم منگنز، 50000 میلی‌گرم منگنز آهن، 84700 میلی‌گرم روی، 10000 میلی‌گرم مس، 990 میلی‌گرم ید، 200 میلی‌گرم سلنیوم و 250000 میلی‌گرم کولین کلراید.

[2]هر 2/5 کیلوگرم از مکمل ویتامینی شامل: 9000000 واحد بین‌المللی ویتامین A، 2000000 واحد بین‌المللی ویتامین D3، 1800 واحد بین‌المللی ویتامین E،2000 میلی‌گرم ویتامین K3، 1800 میلی‌گرم ویتامین B1،6600 میلی‌گرم ویتامین B2، 10000 میلی‌گرم ویتامین B3، 3000 میلی‌گرم ویتامین B5، 3000 میلی‌گرم ویتامین B6، 1000 میلی‌گرم ویتامین B9، 15 میلی‌گرم ویتامین B12 و 100 میلی‌گرم ویتامین H2.

[1]The experimental diets were made by adding mineral premix to the basal diet at 25, 50, 75, 100% of level recommended by manufacture (2.5 kg/ton). Each 2.5 kg of vitamin premix includes 9,000,000 International Units (IU) of vitamin A, 2000000 IU of vitamin D3, 1800 IU of vitamin E, 2000 mgs of vitamin K_3, 1800 mgs of vitamin B1, 6600 mg of vitamin B2, 10000 mgs of vitamin B3, 3000 mgs of vitamin B5, 3000 mgs of vitamin B6, 1000 mgs of vitamin B9, 15 mgs of vitamin B12 and 100 mgs of vitamin H2.

[2]Each 2.5 kg of mineral supplement contains 99,200 mgs of manganese, 50,000 mgs iron, 84,700 mgs of zinc, 10,000 mgs Cu, 990 mgs of iodine, 250,000 mg choline chloride and 200 mgs of selenium.

برای اندازه‌گیری عناصر معدنی سرم خون و پر از روش استاندارد D4638–03 انجمن امریکا (1) و روش چند عنصری اسپکترومتری نشری پلاسمای جفت شونده القائی (ICP-OES[1]) استفاده شد.

طرح آماری به کار گرفته‌شده در این تحقیق طرح کاملاً تصادفی بود (رابطه 1).

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij} \quad (1)$$

در این رابطه Y_{ij} مقدار هر مشاهده، T_i اثر تیمار و e_{ij} خطای آزمایش است. تجزیه‌وتحلیل کلیه داده‌های آزمایشی از جمله داده‌های مرتبط با نمره‌دهی پوشش و آسیب‌دیدگی پرها با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار SAS انجام شد. برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون چند دامنه‌ای توکی در سطح معنی‌داری 5 درصد استفاده شد.

1 Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy

جدول 2- الگوی مورد استفاده جهت نمره دهی وضعیت پر درآوری (17)

Table 2- The pattern used for feather scoring (17).

بر اساس پوشش پر Feather coverage	نمره Score	بر اساس آسیب Poor feathering	نمره Score
پوشش کامل Complete coverage	5	فاقد پرهای شکسته No defect	0
پوشش بیشتر از 75 درصد >75% coverage	4		
پوشش 75- 50 درصد 50-75% coverage	3	ضایعه و پر پاره Lesion and torn feathers	1
پوشش 50-25 درصد 25-50% coverage	2		
پوشش کمتر از 25 درصد <25% coverage	1	تاول روی ساقه پر، ناتوانی پر برای رویش از فولیکول، پر توسعه نیافته و شکسته Blisters had developed on the shaft, near failure of feather to emerge from the follicle, broken feathers and retarded feathering	2

نتایج و بحث

اگرچه در تمامی دوره‌های پرورش، جوجه‌های گوشتی تغذیه‌شده با جیره‌های مکمل شده با پیش مخلوط مواد معدنی در مقایسه با جیره بدون مکمل افزایش وزن روزانه بیشتری داشتند (P<0/05)، ولی این تفاوت‌ها برای جیره‌های مکمل‌شده با پیش مخلوط معنی‌دارنبود (جدول 3).

گزارشات در رابطه با اثرات حذف مکمل‌های ویتامینی و معدنی روی عملکرد جوجه‌های گوشتی ضد و نقیض است. به طوری‌که، حذف پیش مخلوط مواد معدنی در طی هفته‌های آخر پرورش اثر معنی‌داری روی افزایش وزن جوجه‌های گوشتی نداشت (4، 6 و 28)، در حالی‌که در گزارش دیگر حذف ویتامین و عناصر کم نیاز در طی هفته آخر پرورش منجر به کاهش در افزایش وزن روزانه شد (24).

چنانچه از جدول 3 دیده می‌شود، ازنظر خوراک مصرفی تیمارهای حاوی پیش مخلوط مواد معدنی در مقایسه با گروه شاهد (بدون مکمل) مصرف خوراک بالاتری داشتند (P<0/05). به‌هرحال و در مشابهت با افزایش وزن روزانه تفاوت‌های مشاهده شده در خوراک مصرفی برای گروه‌های مکمل شده با پیش مخلوط مواد معدنی معنی‌دار نبود (P>0/05).

گزارش‌ها نشان دادند که حذف مکمل معدنی و ویتامینی در هفته‌های اول باعث کاهش خوراک مصرفی شد ولی این اثر در دو هفته آخر دوره پرورش معنی‌دار نبود (4، 6، 19 و 28). در آزمایشی دیگر، حذف مکمل‌های ویتامینی و معدنی در انتهای دوره پرورش باعث افزایش معنی‌داری در میزان خوراک مصرفی شد (13).

چنانچه از اطلاعات ارایه شده در جدول 3 در رابطه با ضریب تبدیل خوراک دیده می‌شود، تفاوت‌های مشاهده در رابطه با این صفت در دوره‌های رشد و پایانی در مقایسه با گروه شاهد معنی‌دار بود (P<0/05). وجود پیش مخلوط منجر به بهبود در این صفت شد که در مطابقت با یافته‌های قبل بود (4 و 5).

جیره مکمل شده با شکل‌های کیلات معدنی و آلی مس، آهن، منگنز و روی به ترتیب در مقادیر 4، 20، 40 و 30 میلی‌گرم در هر کیلوگرم جیره، عملکرد مشابهی را همانند سطوح NRC (8 میلی‌گرم مس، 4 میلی‌گرم آهن،60 میلی‌گرم منگنز،40 میلی‌گرم روی) در شکل املاح آلی تولید کرد. به‌هرحال، جوجه‌های تغذیه‌شده با جیره‌هایی که فاقد مکمل مواد معدنی کم‌نیاز بودند، مصرف خوراک و نرخ رشد کاهش یافته‌ای را از خود در مقایسه با گروه شاهد نشان دادند (2). در آزمایش دیگر، تفاوت معنی‌داری در وزن بدن، ضریب تبدیل خوراک و خوراک مصرفی در پرندگان تغذیه‌شده با تیمار 20 درصدی از سطوح پیشنهادی مکمل مواد معدنی کم‌نیاز در مقایسه با تیماری که 100 درصد از مکمل مواد معدنی کم‌نیاز دریافت کرده بودند، مشاهده نشد (29)، که در مطابقت با نتایج آزمایش حاضر است.

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از این آزمایش (جدول 4) تیمارهای پیش مخلوط مواد معدنی سبب افزایش در قطر استخوان درشت‌نی در مقایسه با تیمار شاهد شدند (P<0/05) به‌گونه‌ای که بیشترین قطر مربوط به تیمار 100 درصد مکمل بود. هم‌چنین، افزودن پیش مخلوط مواد معدنی باعث افزایش در حجم استخوان درشت‌نی گردید، به‌گونه‌ای که کم‌ترین حجم استخوان درشت‌نی مربوط به تیمار شاهد و بیشترین آن مربوط به تیمار 100 درصد پیش مخلوط مواد معدنی بود. چگالی و درصد خاکستر بین تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشت (P>0/05). افزایش سطوح پیش مخلوط مواد معدنی سبب بهبود طول استخوان درشت‌نی شد به‌گونه‌ای که بیشترین طول استخوان مربوط به تیمار 100 درصد پیش مخلوط مواد معدنی بود.

جدول 3- اثر مکمل پیش مخلوط مواد معدنی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در دوره‌های رشدی مختلف [1]

Table 3- Effect of mineral premix supplementation on broiler performance in different growth periods[1]

سطح جیره‌ای پیش‌مخلوط مواد معدنی[2] Dietary level of M. Pmix[2]	افزایش وزن بدن (گرم/پرنده/روز) Body weight gain (g/bird/d)			
	Starter (0-10 d)	Grower (11-24 d)	Finisher (25-42 d)	Whole period (0-42 d)
0	11.70[b]	17.37[b]	21.17[b]	16.69[b]
25	17.55[a]	56.51[a]	101.17[a]	63.77[a]
50	16.12[ab]	49.55[a]	99.98[a]	59.88[a]
75	14.47[ab]	48.67[a]	94.08[a]	57.12[a]
100	15.58[ab]	51.41[a]	99.09[a]	59.17[a]
SEM[3]	0.64	3.31	7.18	4.06
p- value	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
	مصرف خوراک (گرم/پرنده/روز) Feed intake (g/bird/d)			
0	19.31[b]	34.45[b]	67.24[b]	42.25[b]
25	25.51[a]	89.03[a]	185.9[a]	109.47[a]
50	24.27[a]	80.03[a]	181.0[a]	103.96[a]
75	21.61[ab]	74.49[a]	176.9[a]	99.72[a]
100	24.37[a]	80.70[a]	177.1[a]	102.15[a]
SEM	0.63	4.64	10.54	5.82
p- value	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
	ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio			
0	1.67	2[a]	3.08[a]	2.52[b]
25	1.45	1.57[b]	1.84[b]	1.711[a]
50	1.53	1.60[b]	1.83[b]	1.73[a]
75	1.52	1.52[b]	1.88[b]	1.74[a]
100	1.54	1.57[b]	1.83[b]	1.73[a]
SEM	0.03	0.04	0.01	0.075
p- value	0.144	0.0001	0.0001	0.0001

[1]درهرستون حروف غیرمشابه بیانگر تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی می‌باشد (P<0/05).

[2]سطوح جیره‌ای پیش‌مخلوط مواد معدنی براساس درصد از سطح پیشنهادی (0/25 درصد) کارخانه سازنده

[3]خطای استاندارد میانگین

[1]In each column, means with different subscript letters differ significantly (P< 0.05)

[2]M.Pmix= mineral premix as percentage of recommended level (0.25% of Diet) by manufacturing company

[3]Standard error of the mean

اثر سطوح روی (Zn) پایین‌تر از سطح پیشنهادی NRC (1994) به جیره جوجه‌های گوشتی منجر به کاهش تراکم، غلظت و طول استخوان درشت‌نی شد (29). سطوح بالاتر روی (Zn) هیچ اثری بر میزان خاکستر استخوان نداشت. از آن جایی‌که کلسیم و فسفر عمده عناصر تشکیل‌دهنده ساختمان استخوان هستند، لذا سطوح مختلف عناصر کم‌مصرف تأثیر چشمگیری روی مقدار خاکستر استخوان ندارد. جیره‌های مکمل شده با 40 میلی‌گرم روی، 60 میلی‌گرم منگنز و 8 میلی‌گرم مس در مقایسه با جیره‌های مکمل شده با 80 میلی‌گرم روی، 120 میلی‌گرم منگنز و 8 میلی‌گرم مس تفاوتی در پارامترهای استخوانی ایجاد نکردند (29).

نتایج حاصل در رابطه با اثر سطوح پیش مخلوط مواد معدنی بر وضعیت پر درآوری در جدول 5 و شکل‌های 1 و 2 نشان داده‌شده است. در رابطه با پوشش پر دم بین تیمار بدون پیش مخلوط مواد معدنی با تیمارهای حاوی پیش مخلوط تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (P<0/05). تفاوت پوشش پر دم بین تیمار 25 و 50 درصد پیش مخلوط معنی‌دار نبود، اما این تفاوت‌ها با سطوح 75 و 100 درصد پیش مخلوط معنی‌دار شد (P<0/05). بالاترین نمره پوشش پر ناحیه دم مربوط به تیمار 100 درصد پیش مخلوط مواد معدنی بود. در مورد پوشش پر بال نیز تفاوت تیمار شاهد با بقیه تیمارها معنی‌دار بود (P<0/05). در مشابهت با پوشش پر دم، بیشترین پوشش پر ناحیه بال مربوط تیمار 100 درصد پیش مخلوط مواد معدنی بود.

جدول 4- اثر سطوح پیش مخلوط مواد معدنی بر خصوصیات استخوان درشت‌نی جوجه‌های گوشتی در سن 42 روزگی[1]

Table 4- Effect of mineral premix supplementation on tibia bone morphometric of broiler chicks at 42 day of age[1]

سطوح جیره‌ای پیش‌مخلوط مواد معدنی[2] Dietary level of M.Pmix (%)[2]	وزن Weight (g)	وزن نسبی Relative weight (% of BW)	قطر Diameter[3] (cm)	طول Length (cm)	حجم Volume (cm^3)	چگالی Density (g/cm^3)	خاکستر Ash (%)
0	4.24^b	0.531	0.42^b	6.31^b	3.87^b	1.53	33.22
25	13.48^a	0.503	0.79^a	9.43^a	11.80^a	1.21	34.93
50	12.70^a	0.505	0.75^a	9.52^a	10.68^a	1.18	36.70
75	12.88^a	0.537	0.78^a	9.34^a	11.09^a	1.15	36.13
100	13.53^a	0.544	0.84^a	9.48^a	11.31^a	1.19	36.61
SEM	0.91	0.005	0.035	0.30	0.74	0.01	0.92
p- value	0.0001	0.45	0.0001	0.0001	0.0001	0.370	0.253

[1]درهرستون حروف غیرمشابه بیانگر تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی می‌باشد (P<0/05).

[2]سطوح جیره‌ای پیش‌مخلوط مواد معدنی براساس درصد از سطح پیشنهادی (0/25 درصد) کارخانه سازنده

[3]قطر خارجی بخش میانی استخوان درشت‌نی

[1]In each column, means with different superscript letters differ significantly (P<0.05).
[2]M.Pmix= mineral premix as percentage of recommended level (0.25% of Diet) by manufacturing company
[3]External diameter of the tibia at the middle point

جدول 5- اثر مکمل پیش‌مخلوط مواد معدنی بر نمره‌دهی پر جوجه‌های گوشتی (میانگین ± خطای استاندارد)[1]

Table 5- Effects of mineral premix supplementation on feather scoring in broiler chickens (mean ± SE)[1]

سطوح جیره‌ای پیش‌مخلوط مواد معدنی[2] Dietary level of M.Pmix (%)[2]	پوشش پر Coverage score		پر آسیب دیده Defect score	
	بال Wing	دم Tail	بال Wing	دم Tail
0	1.62^b±0.08	1.25^c±0.06	1.87^a±0.02	1.87^a±0.02
25	4.37^a±0.08	3.87^b±0.02	1.12^b±0.02	1.12^b±0.02
50	4.50^a±0.08	4.25^{ab}±0.06	0.87^b±0.02	0.87^b±0.02
75	4.50^a±0.08	4.62^a±0.08	0.62^{bc}±0.08	0.62^{bc}±0.08
100	4.87^a±0.02	4.75^a±0.06	0.12^c±0.02	0.12^c±0.02
P-value	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001

[1]درهرستون حروف غیرمشابه بیانگر تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی می‌باشد (P<0/05).

[2]سطوح جیره‌ای پیش‌مخلوط مواد معدنی براساس درصد از سطح پیشنهادی (0/25 درصد) کارخانه سازنده

[1]In each column, means with different superscript letters differ significantly (P<0.05).
[2]M.Pmix= mineral premix as percentage of recommended level (0.25% of Diet) by manufacturing company

چنان‌چه از نتایج جدول 5 و اشکال 1 و 2 دیده می‌شود با افزایش سطوح پیش‌مخلوط مواد معدنی در جیره از میزان ضایعه و پرهای ناقص کاسته شد، به‌گونه‌ای که بیشترین مقدار ضایعه هم در ناحیه دم و هم در ناحیه بال مربوط به تیمار شاهد و کمترین آن مربوط به تیمار 100 درصد پیش مخلوط مواد معدنی بود. نمره‌دهی پر به‌عنوان یک ابزار بالقوه بصری جهت تشخیص سریع کمبود روی بکار برده می‌شود (17).

هم راستای با نتایج آزمایش حاضر، در آزمایشی اثر غلظت‌های متفاوت عنصر روی (Zn) در جیره روی نمره‌دهی پوشش پر ناحیه دم معنی‌دار بود (17). هم‌چنین در آمایش مذکور، در دمای محیطی بالا نمره پوشش پر برای قسمت‌های پشت و دم در جیره‌های حاوی 60 میلی‌گرم در کیلوگرم Zn در مقایسه با جیره‌های با 40 میلی‌گرم در کیلوگرم Zn ، به‌طور قابل‌توجه ای بیشتر بود. در شرایط درجه حرارت بالا، جیره حاوی 40 و 60 میلی‌گرم در مقایسه با تیمار فاقد مکمل Zn و 0/8 درصد کلسیم شکستگی و پر ناقص کمتری در ناحیه دم داشتند. این نتایج نشان می‌دهد که مکمل Zn اثر زیان‌بار درجه حرارت محیطی بالا را در ایجاد پر ناقص برطرف می‌کند، ولی در دمای پایین هیچ تفاوت معنی‌داری برای قسمت‌های پشت، سینه، زیر بال و دم در جیره‌های بدون مکمل Zn و 60 میلی‌گرم در کیلوگرم Zn با 0/8 درصد کلسیم مشاهده نشد. روند مشابهی در مورد نمره پوشش پر در قسمت‌های سینه، زیر بال و دم در شرایط دمای محیطی بالا مشاهده شد (17).

شکل 1- میزان پوشش و آسیب‌دیدگی پرها در ناحیه بال در تیمارهای جیره‌ای مختلف

Figure 1- Coverage and damaged feathers of wing in different dietary treatments[1]

T1 T2 T3 T4 T5

[1]T1) Control group (without mineral premix supplementation), T2) mineral premix at 25% of recommendation level, T3) mineral premix at 50% of recommendation level, T4) mineral premix at 75% of recommendation level and T5) mineral premix at 100% of recommendation level.

شکل 2- میزان پوشش و آسیب‌دیدگی پرها در ناحیه دم در تیمارهای جیره‌ای مختلف

Figure 2- Coverage and damaged feathers in different treatments of tail[1]

T1 T2 T3 T4 T5

[1]T1) Control group (without mineral premix supplementation), T2) mineral premix at 25% of recommendation level, T3) mineral premix at 50% of recommendation level, T4) mineral premix at 75% of recommendation level and T5) mineral premix at 100% of recommendation level.

جدول 6- غلظت سرمی عناصر معدنی در تیمارهای جیره‌ای مختلف (میانگین ± خطای استاندارد)[1]

Table 6- Serum concentrations of mineral elements in different dietary treatments (mean ± SE)[1]

تیمار[2] Treatment[2]	Ni[3]	Cr[3]	P[4]	Ca[4]	K[4]	Na[4]	Zn[3]	Mn[3]
0	9.12±0.99	27.19±0.84	10.58±0.09	4^{b}±0	2.33±0.33	36.33±0.76	15.50±0.85	2.23±0.24
25	8.98±0.17	27.98±0.99	10.76±0.09	4.33^{ab}±0.33	3±0.001	40±1.52	10.98±0.56	2.43±0.14
50	8.09±0.97	28.60±0.90	10.94±0.001	5.33^{ab}±0.66	1.66±0.33	44±0.57	13.04±0.98	2.65±0.38
75	11.87±0.65	25.41±0.61	14.74±0.33	6.33^{ab}±0.33	2.66±0.33	37.66±0.66	13.16±0.94	3.06±0.31
100	10.48±0.63	28.89±0.13	11.12±0.09	6.67^{a}±0.88	2.66±0.33	33.33±0.72	13.23±0.77	2.51±0.03
p-value	0.2482	0.1895	0.3420	0.0201	0.080	0.3091	0.062	0.2881

[1] درهرستون حروف غیرمشابه بیانگر تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی می‌باشد (P<0/05).

[2]صفر درصد: تیمار شاهد (بدون پیش مخلوط مواد معدنی)، 25 درصد: تیمار حاوی پیش مخلوط مواد معدنی در سطح 25 درصد پیشنهادی کاتالوگ، 50 درصد: تیمار حاوی پیش مخلوط مواد معدنی در سطح 50 درصد پیشنهادی کاتالوگ، 75 درصد: تیمار حاوی پیش مخلوط مواد معدنی در سطح 75 درصد پیشنهادی کاتالوگ و 100 درصد: تیمار حاوی پیش مخلوط مواد معدنی در سطح 100 درصد پیشنهادی کاتالوگ.

[3]میکروگرم در گرم

[4]میلی‌گرم در کیلوگرم

[1]In each column, means with different superscript letters differ significantly (P<0.05).

[2]0 %) Control group (without mineral premix supplementation), 25 %) mineral premix at 25% of recommendation level, 50 %) mineral premix at 50% of recommendation level, 75 %) mineral premix at 75% of recommendation level and 100 %) mineral premix at 100% of recommendation level.

[3]micrograms per gram

[4]milligram per kilogram

جدول 7- غلظت عناصر معدنی پر در تیمارهای جیره‌ای مختلف (میانگین ± خطای استاندارد)

Table 7- Feather concentrations of mineral elements in different dietary treatments (mean ± SE)

تیمار Treatment[1]	Ni[2]	Cr[2]	P[3]	Ca[3]	K[3]	Na[3]	Zn[1]	Mn[1]
0 %	10.78±1.83	32.40±0.43	14.55±0.21	6.33±0.88	9^{b}±0.57	16±0.57	126.1^{b}±1.23	8.8±0.33
25 %	11.25±2.19	30.19±1.30	16.50±0.84	13±0.57	12.67^{ab}±0.88	23±0.50	131^{ab}±1.23	9.04±1.82
50 %	10.45±0.30	50.93±1.28	14.46±0.94	9.33±0.33	13.33^{ab}±0.35	19.14±0.33	143.2^{ab}±1.57	9.96±0.22
75 %	8.73±0.56	30.76±1.39	15.02±0.91	10±0.81	14.66^{ab}±0.33	19.33±0.18	150.3^{ab}±1.58	10.61±0.45
100 %	12.87±0.15	40.75±0.23	14.38±0.57	13±0.53	15^{a}±0.80	19.33±0.86	188^{a}±1.59	12.456±0.48
p-value	0.8778	0.2953	0.4265	0.2962	0.0198	0.3169	0.0462	0.0893

[1] درهرستون حروف غیرمشابه بیانگر تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی می‌باشد (P<0/05).

[2] صفر درصد: تیمار شاهد (بدون پیش مخلوط مواد معدنی)، 25 درصد: تیمار حاوی پیش مخلوط مواد معدنی در سطح 25 درصد پیشنهادی کاتالوگ، 50 درصد: تیمار حاوی پیش مخلوط مواد معدنی در سطح 50 درصد پیشنهادی کاتالوگ، 75 درصد: تیمار حاوی پیش مخلوط مواد معدنی در سطح 75 درصد پیشنهادی کاتالوگ و 100 درصد: تیمار حاوی پیش مخلوط مواد معدنی در سطح 100 درصد پیشنهادی کاتالوگ.

[3] میکروگرم در گرم

[4] میلی‌گرم در کیلوگرم

[1] In each column, means with different superscript letters differ significantly (P<0.05).

[2] 0 %) Control group (without mineral premix supplementation), 25 %) mineral premix at 25% of recommendation level, 50 %) mineral premix at 50% of recommendation level, 75 %) mineral premix at 75% of recommendation level and 100 %) mineral premix at 100% of recommendation level.

[3] micrograms per gram

[4] milligram per kilogram

اثر سطوح پیش‌مخلوط مواد معدنی تأمین شده از طریق جیره بر میزان غلظت سرمی عناصر معدنی و غلظت آن‌ها در پر به ترتیب در جداول 6 و 7 ارایه شده‌است. به طوری‌که مشاهده می شود، این اثر برای غلظت Zn در سرم (جدول 6) غیر معنی‌دار و در نمونه پر (جدول 7) معنی‌دار بود (P<0/05). به‌گونه‌ای که بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار Zn در پر به ترتیب متعلق به تیمار 100 و صفر درصد پیش مخلوط مواد معدنی بود، ولی تفاوت غلظت آن بین تیمارهای دریافت‌کننده مکمل معنی‌دار نبود (P>0/05).

مقادیر عناصر پتاسیم، کلسیم، فسفر، نیکل و منگنز در پر بیش‌تر از نمونه‌های سرم خون بود (جداول 6 و 7). میزان سدیم موجود در سرم بالاتر از میزان سدیم موجود در پر بود. عنصر پتاسیم میزان ذخیره شدنش در پر در مقایسه با سرم بیش‌تر و تفاوت بین تیمارها معنی‌دار بود به‌گونه‌ای که کمترین مقدار آن مربوط به تیمار شاهد و بیش‌ترین مربوط به تیمار 100 درصد مکمل پیش مخلوط بود. میزان کلسیم موجود در پر به نسبت بیش‌تر از کلسیم موجود در سرم بود هرچند که بین تیمارهای پر تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ولی در سرم این تفاوت معنی‌دار بود که کم‌ترین مقدار مربوط به تیمار شاهد و بیش‌ترین آن مربوط به تیمار 100 درصد مکمل پیش مخلوط بود. میزان عناصر فسفر، کروم و نیکل در پر نسبت به سرم بیشتر بود هر چند که تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد.

بر اساس نتایج گزارش شده بین مقادیر عناصر معدنی مو و مقادیر طبیعی آن‌ها در بدن، ارتباط وجود دارد (9 و 30)، به‌طوری‌که نامتوازن بودن پروفایل عناصر معدنی مو به‌عنوان ابزاری مناسب برای تشخیص اولیه بسیاری از بیماری‌ها به شمار می‌رود (30).

نتیجه‌گیری کلی

با وجود تفاوت مشاهده شده بین تیمار فاقد پیش مخلوط مواد معدنی و تیمارهای مکمل شده با آن در خصوصیات عملکردی و فراسنجه‌های مرتبط با استخوان درشت‌نی، تفاوت معنی‌داری در رابطه با این صفات در جوجه‌های مکمل‌شده با سطوح متفاوت پیش مخلوط مواد معدنی (25، 50، 75 و 100 درصد سطح پیشنهادی) مشاهده نشد. به هرحال، با توجه به تاثیرپذیری وضعیت پردرآوری جوجه‌های گوشتی از سطوح مختلف پیش مخلوط جیره‌ای مواد معدنی و اهمیتی که پوشش و کیفیت پر در سلامت پرنده و بازارپسندی آن دارد، استفاده از پیش مخلوط در سطح 100 درصد پیشنهادی به منظور اطمینان از تامین نیازمندی‌ها پیشنهاد می شود.

منابع

1- American Society for Testing and Materials (ASTM). 2004. Annual book of American society for testing and materials standards. Water and environmental technology. Standard guide for preparation of biological samples for inorganic chemical analysis. ASTM D4638-03, 11-6.

2- Bao, Y., M. Choct., P. Iji, and K. Bruerton. 2010. The digestibility of organic trace minerals along the small intestine in broiler chickens. Asian Australasian Journal of Animal Science, 23: 90-97.

3- Onyango E. M., P. Y. Hester., R. Stroshine, and O. Adeola. 2003. Bone densitometry as an indicator of percentage tibia ash in broiler chicks fed varying dietary calcium and phosphorus levels. Poultry Science, 82(11): 1787-91.
4- Christmas, R. B., R. H. Harms, and D. R Sloan. 1995. The absence of vitamins and trace minerals on broiler performance. Journal of Applied Poultry Research, 4(4), 407-410.
5- Deyhim, F, and R. G. Teeter. (1993). Dietary vitamin and/or trace mineral premix effects on performance, humoral mediated immunity, and carcass composition of broilers during thermos neutral and high ambient temperature distress. Journal of Applied Poultry Research, 2(4), 347-355.
6- Durans, S. J, and A. G. Gerant. 1997. Effect of removal of vitamin-trace premix and supplemental calcium and phosphorous from grower and finisher diets on broiler performance. Ceiba, 40 (1): 73-77.
7- Gabryszuk, M., K. Sloniewski., E. Metera, and T. Sakowski. 2010. Content of mineral elements in milk and hair of cows from organic farms. Journal of Elementology, 15: 259-267.
8- Gálik, B., D. Bíro., M. Halo., M. Juráček., M. Šimko., P. Massányi, and M. Rolinec. 2012. The effect of different macromineral intakes on mineral metabolism of sport horses. Acta Veterinaria Brno, 81: 113-117.
9- Ghorbani, A., A. Mohit, and H. Darmani Kuhi. 2015. Effects of dietary mineral intake on hair and serum mineral contents of horses. Journal of Equine Veterinary Science, 35(4): 295-300
10- Hanson, H. C, and R. L. Jones. 1976. Biogeochemistry of blue, snow, and Ross' geese. Published by Southern Illinois University, USA.
11- Iyengar, V, and J. Woittiez. 1988. Trace elements in human clinical specimens: evaluation of literature data to identify reference values. Clinical chemistry, 34: 474-481.
12- Karbasi, M. H., B. Jahanparast., M. Shamsipur, and J. Hassan. 2009. Simultaneous trace multielement determination by ICP-OES after solid phase extraction with modified octa decyl silica gel. Journal of Hazardous Materials, 170: 151-155.
13- Khajali, F., E. A. Khoshoei, and A. Z. Moghaddam. 2006. Effect of vitamin and trace mineral withdrawal from finisher diets on growth performance and immune competence of broiler chickens. British Poultry Science, 47(2): 159-162.
14- Kjaer, J. B, and W. Bessei. 2013. The interrelationships of nutrition and feather pecking in the domestic fowl – A review. Archiv fur Geflugelkunde, 77(1): S. 1- 9
15- Kozák, J. 2011. An overview of feathers formation, moults and down production in geese. Asian-Australian Journal of Animal Science, 24(6): 881-887.
16- Laganá, CA., M. L. Ribeiro., A. D. M. Kessler., L. R. Kratz, and C. C. Pinheiro. 2007. Effect of the supplementation of vitamins and organic minerals on the performance of broilers under heat stress. Revista Brasileira de Ciência Avícola, 9(1), 39-43.
17- Lai, P., J. Liang., L. Hsia., T. Loh, and Y. Ho. 2010. Effects of varying dietary zinc levels and environmental temperatures on the growth performance, feathering score and feather mineral concentrations of broiler chicks. Asian Australasian Journal of Animal Science, 23: 937-945.
18- Leeson, S, and T. Walsh. 2004. Feathering in commercial poultry II. Factors influencing feather growth and feather loss. World's Poultry Science Journal, 60: 52-63.
19- Maiorka, A., A. C. E. Laurentiz., L. Santin., F. Araujo, and M. Macari. 2002. Dietary vitamin or mineral mix removal during the finisher period on broiler chicken performance. Journal of Applied Poultry Research, 11(2): 121-126.
20- Mohamed, M., H. Hassan., A. W. Youssef, and S. M. Gad. 2015. Feeding broilers on finisher diet of low trace mineral levels and its effect upon performance, carcass characteristics, mineral excretion and net profit. International Journal of Poultry Science, 14(6): 338-342.
21- Mondal, S., S. Haldar., P. Saha, and T. K. Ghosh. 2010. Metabolism and tissue distribution of trace elements in broiler chickens' fed diets containing deficient and plethoric levels of copper, manganese, and zinc. Biological Trace Element Research, 137: 190-205.
22- Namkoong, S., S. P. Hong., M. H. Kim, and B. C. Park. 2013. Reliability on intra-laboratory and inter-laboratory data of hair mineral analysis comparing with blood analysis. Annals Of Dermatology, 25: 67-72.
23- Nollet, L., J. VanderKlis., M. Lensing, and P. Spring. 2007. The effect of replacing inorganic with organic trace minerals in broiler diets on productive performance and mineral excretion. Journal of Applied Poultry Research, 16: 592-597.
24- Patel, K. P., H. M. Edwards, and D. H. Baker. 1997. Removal of vitamin and trace mineral supplements from broiler finisher diets. Journal of Applied Poultry Research, 6(2), 191-198.

25- Rath, N. C., J. M. Balog., W. E. Huff., G. R. Huff., G.B. Kulkarni, and J. F Tierce. 1999. Comparative difference in the composition and biomechanical properties of tibia of seven-and seventy-two-week-old male and female broiler breeder chickens. Poultry Science, 78: 1232-1239.
26- Rowland, L. O. Jr., R. H. Harms., H. R. Wilson., E. M. Ahmed., P. W. Waldroup, and J. L. Fry. 1968. Influence of various dietary factors on bone fragility of caged layers. Poultry Science, 47:507–511.
27- Savory, C. J. 1995. Feather pecking and cannibalism. World's Poultry Science Journal, 51:215–219.
28- Skinner, J. T., A. L. Waldroup, and P. W. Waldroup. 1992. Effects of removal of vitamin and trace mineral supplements from grower and finisher diets on live performance and carcass composition of broilers. Journal of Applied Poultry Research, 1(3): 280-286.
29- Wang, Z., S. Cerrate., F. Yan., P. Sacakli, and P. W. Waldroup. 2008. Comparison of different concentrations of inorganic trace minerals in broiler diets on live performance and mineral excretion. International Journal of Poultry Science, 7(7): 625-629.
30- Wołowiec, P., I. Michalak., K. Chojnacka, and M. Mikulewicz. 2013. Hair analysis in health assessment. Clinica Chimica Acta, 419: 139-171.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 11, No. 3, Fall 2019, p. 341-352

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد 11، شماره 3، پاییز 1398، ص. 352-341

Effects of Mineral Premix on Performance, Feathering Score, Tibia Characteristics and Minerals Accumulation in Serum and Feather in Broiler Chicks

S. Mohammadi[1], H. Darmani Kuhi[2*], N. Ghavi Hossein Zadeh[2]

Received: 06-10-2017
Accepted: 07-10-2018

Introduction In commercial production, there is often concern about the quantity and/or quality of feathering in both broilers and layers. For broilers, the concern is adequacy of protective feather cover, while in layers usually the necessary degree of feathering needed to optimize feed efficiency. Feather development is under the control of hormones such as thyroxine and estrogen and indirectly by testosterone. Therefore, environmental or nutritional status affecting the hormonal output of the birds will indirectly influence their feathering. Nutrition influences rate of feathering as well as feather structure, color and molting. In spite of the fact that minerals constitute a little proportion of body weight (2 to 5%) in vertebrates, their significance is high for growth, enzyme activation, immune system, regulation of the osmotic pressure, egg production and feathering. Urine and blood serum or plasma are the most commonly used bio fluids for metabolomics-based studies for the simple reasons that they both contain hundreds to thousands of detectable metabolites. In blood, the minerals undergo homeostatic controls, thus the ranges of concentrations are narrow, but the concentration of minerals in hair and feather is broad and can reflect long term metabolic changes. Blood tests can vary significantly depending upon animal's diet, activity level, the time of day and many other factors. Contrary to the blood, the concentration of minerals in hair and feather is broad and can reflect long term metabolic changes. Hair or feather can be considered as a metabolically inactive tissue, and its composition indicates the levels of trace elements that store in its structure through nutritive blood flow. Feather chemistry has been investigated as a means of identifying the geographic origins of migrating and wintering populations of birds, and as an indicator of environmental pollution. Since the minerals are crucial to the functioning of enzymes, hormones and other biochemical systems, it is possible to read the hair or feather test and see where metabolic patterns are deviating from the norm. The present study was amid to examine the potential applicability of serum or feather samples as a biological indicator to evaluate the broiler responses to (un)sufficient diets with regards to the trace mineral supplementation at 0, 25, 50, 75 and 100% of the recommended requirements.

Material and Methods A total of 200 one-day-old Ross 308 strain of broiler chicks (male and female) were used in a completely randomized design with 4 replicates of 10 chicks each. A large batch of corn and soybean meal basal diet was prepared for each age period (0-14, 14-35 and 35-42 days) and aliquots used for mixing the experimental diets. The experimental diets were prepared by mixing mineral premix at 100, 70, 50, 25, and 0% of normal inclusion rates, resulting in five experimental diets. At the end of the experiment, two male chicks close to average weight of each experimental unit were selected for bone quality assessment and feathering scores for wing and tail using scores of 1 to 5 for feather coverage with 1 representing minimal coverage, i.e. <25% coverage; 2 for 25-50% coverage; 3 for 50-75% coverage; 4 for >75% coverage and 5 for complete coverage. The wing and tail were further evaluated on a scale of 0 to 2 for the occurrence and severity of poor feathering with 0 indicating no defect; 1 for lesion and torn feathers, and 2 indicating blisters had developed on the shaft, near failure of feather to emerge from the follicle, broken feathers and retarded feathering. Tibia bone morphometric parameters, i.e. weight, diameter, length, density, volume and ash, were determined. The serum mineral concentration was measured in the fasting state at the end of the experiment. At this time, a total of 3mL of the blood samples was accumulated in plain vacutainer tubes from the veins under the wing. After collecting, the blood samples were left undisturbed for at least 1 hour to reach the room temperature. The serums were centrifuging at 3,000 rpm for 15 minutes. The obtained sera were kept in 1.5mL micro tubes at -80°C until they were analyzed for mineral concentration. The method of American Society for Testing and Materials, D4638–03 standard, was used for preparing the serum and feather samples.

1- Graduated Student in Msc, Department of Animal Science, College of Agricultural Science, University of Guilan, Rasht, Iran. P.O.Box: 58643-41889.
2- Associate Professor, Department of Animal Science, College of Agricultural Science, University of Guilan, Rasht, Iran. P.O.Box :58643-41889.
(*-Corresponding Author Email: h.darmani@guilan.ac.ir)

Results and Discussion The results showed that treatments supplemented with mineral premix caused increase in average daily gain and feed intake compared to the control group (P<0.05), but the difference among mineral premix-supplemented groups was not significant (P>0.05). Feed conversion ratio in the starter period was not affected by the experimental treatments; nevertheless, in the growing and finishing periods a significant difference was indicated compared to the control. Bone parameters including weight, diameter, length and volume showed significant differences to the control group; but the difference for density and ash were not significant. The results showed that the effect of trace mineral supplementation was significant for feather coverage and defect feather in both wing and tail regions (P<0.05). Feathering score was increased and the amount of damaged feathers was reduced in concordance with the increase in mineral supplementation. Serum concentration of Ca increased in response to trace mineral supplementation. The diagnostic usefulness of feather analysis is confirmed by authors who have proven the correlation between the concentration of basic elements in feather and their concentrations in the body both in the physiological and pathological states. With regard to the use of feather as a nondestructive monitoring tool, it is noticeable that it presented inter-tissue correlation with the serum in most occasions.

Conclusion Feather could be considered as an appropriate criterion to diagnose the mineral status in the body.

Key words: Broiler, Feathering, Feathering Score, Trace minerals

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 11, No. 3, Fall 2019, p. 353-364

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد 11، شماره 3، پاییز 1398، ص. 364-353

تعیین قابلیت هضم ظاهری و ایلئومی استاندارد شده اسیدهای آمینه ضروری ذرت، گندم، کنجاله سویا و کنجاله گلوتن ذرت در بلدرچین ژاپنی در سن سه هفتگی

محمود قزاقی[1] - احمد حسن آبادی[1*] - مهران مهری[2]

تاریخ دریافت: 1398/02/27
تاریخ پذیرش: 1398/04/22

چکیده

این مطالعه به منظور تعیین قابلیت هضم ظاهری و ایلئومی استاندارد شده اسیدهای آمینه ذرت، گندم، کنجاله سویا و کنجاله گلوتن ذرت در بلدرچین ژاپنی در سن 14 تا 21 روزگی انجام شد. در سن 14 روزگی، تعداد 600 قطعه جوجه بلدرچین ژاپنی مخلوط نر و ماده به‌صورت تصادفی در 5 تیمار، 4 تکرار و 30 قطعه پرنده در هر تکرار قرار گرفتند. پنج جیره آزمایشی شامل جیره فاقد نیتروژن، ذرت، گندم، کنجاله سویا و کنجاله گلوتن ذرت به نحوی تهیه شدند که در هر جیره تنها منبع آن پروتئین و اسیدهای آمینه ماده مورد آزمایش بود. میزان دفع درون‌زادی پایه اسیدهای آمینه متیونین، لیزین، ترئونین، آرژنین، والین، ایزولوسین، لوسین و هیستیدین به‌ترتیب 32/6، 306، 241، 104، 355، 497، 49/6 و 80/1 میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک مصرفی به‌دست آمد. مقادیر قابلیت هضم استاندارد شده اسیدهای آمینه متیونین، لیزین، ترئونین، آرژنین، والین، ایزولوسین، لوسین و هیستیدین به عنوان اسیدهای آمینه ضروری در ذرت به ترتیب 94/48، 83/96، 88/33، 89/80، 92/15، 94/0 و 97/53 درصد؛ در گندم به ترتیب 92/54، 95/48، 89/81، 88/48، 90/11، 84/17 و 84/15 درصد؛ در کنجاله سویا به ترتیب 95/27، 83/08، 81/47، 91/45، 87/82، 81/92 و 85/87 درصد و در کنجاله گلوتن ذرت به ترتیب 86/27، 71/23، 78/03، 90/11، 93/23، 76/21 و 74/38 درصد به‌دست آمد. به‌طورکلی بیشترین مقدار ضرایب قابلیت هضم استاندارد شده متیونین، لیزین و آرژنین در کنجاله سویا و ترئونین در دانه ذرت به‌دست آمد. از طرف دیگر، کمترین مقدار ضرایب قابلیت هضم ایلئومی استاندارد شده برای اسیدهای آمینه مذکور به ترتیب در کنجاله گلوتن ذرت، ذرت و گندم به‌دست آمد.

واژه‌های کلیدی: اسید آمینه، بلدرچین ژاپنی، قابلیت هضم استاندارد شده، قابلیت هضم ظاهری

مقدمه

از میان 20 اسید آمینه مهم برای پروتئین‌سازی در بدن، طیور قابلیت ساخت 10 اسید آمینه را در بدن خود ندارند که اسیدهای آمینه ضروری خوانده می‌شوند و بایستی توسط جیره غذایی تأمین شوند. اسیدهای آمینه ضروری برای پرندگان لیزین، متیونین، تریپتوفان، ترئونین، آرژنین، ایزولوسین، لوسین، هیستیدین، فنیل آلانین و والین هستند (8، 18).

طیف گسترده‌ای از مواد غذایی تأمین‌کننده پروتئین و اسیدهای آمینه در جیره طیور مورد استفاده قرار می‌گیرند. در عین حال، میزان دسترسی اسیدهای آمینه برای پرندگان متفاوت است، به‌خصوص در مورد محصولات فرعی که تنوع ترکیب و شرایط فرآوری در آنها بسیار متغیر است. برای افزایش بهره‌وری از چنین مواد خوراکی در فرمولاسیون عملی جیره طیور، ضروری است که میزان اسیدهای آمینه قابل دسترس آنها مشخص شود (16).

بیان ارزش خوراک‌ها از نظر اسیدهای آمینه بر مبنای اسید آمینه کل گرچه اطلاعات با ارزشی از مقادیر کمّی اسیدهای آمینه ارائه می‌دهد، ولی به دلیل تأثیر عوامل مختلف نظیر گونه حیوان، نوع ماده خوراکی و شرایط محیطی بر مقادیر قابل استفاده اسیدهای آمینه موجود در خوراک، از دقت و صحت کافی برخوردار نیست (6). ضعف بیان ارزش اسیدهای آمینه بر اساس اسید آمینه کل در تعدادی از مطالعات نشان داده شده است و استفاده از معیار اسید آمینه قابل هضم یا قابل استفاده در جیره‌های غذایی حاوی کنجاله سویا، کنجاله منداب، پنبه دانه، پودر گوشت و استخوان و پودر مرغان حذفی موجب بهبود افزایش وزن بدن، عضله سینه و ترکیبات لاشه در جوجه‌های

1 به ترتیب دانشجوی سابق دکتری و استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
2 دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: hassanabadi@um.ac.ir)
Doi:10.22067/ijasr.v11i3.80759

گوشتی گردیده است (17).

اعداد به‌دست آمده از طریق تکنیک نسبت شیب نیز ممکن است زیست فراهمی را کمتر برآورد کرده و همواره یک عدد نسبی ارائه می‌دهد (21). همچنین، هر گونه تغییر در اسیدهای آمینه پلاسما جهت تخمین کمی تغییرات حاصل شده در قابلیت هضم یا قابلیت دسترسی اسیدهای آمینه مشکل می‌باشد. به واسطه این محدودیت‌ها، آزمایش اسیدهای آمینه پلاسما از مقبولیت و کاربرد گسترده‌ای برخوردار نیست (10). بنابراین، قابلیت هضم اسیدهای آمینه معیار بهتری از زیست فراهمی ارائه می‌کند (8، 9، 15، 18).

آزمایشات قابلیت هضم ظاهری برای طیور معمولاً از طریق جمع‌آوری فضولات (مدفوع + ادرار) دفع شده از حیوان یا جمع‌آوری مواد هضمی از ایلئوم قابل انجام هستند (18). قابلیت هضم استاندارد شده ایلئومی نیز با محاسبه اتلاف درون‌زادی اسیدهای آمینه امکان‌پذیر است که اتلاف درون‌زادی اسیدهای آمینه تحت تأثیر نوع منبع پروتئینی، سطح پروتئین جیره، میزان فیبر جیره، وجود عوامل ضدتغذیه‌ای، روش کشتار، نوع مارکر مورد استفاده، سن پرنده، گونه، رژیم غذایی و اندازه بدن قرار می‌گیرد (2، 3، 12، 13، 19). از میان این عوامل، سطح اسیدهای آمینه جیره بزرگ‌ترین عامل تأثیرگذار است (13). لذا این مطالعه برای تعیین قابلیت هضم ظاهری و استاندارد شده ایلئومی اسیدهای آمینه ضروری در خوراک‌های ذرت، گندم، کنجاله سویا و کنجاله گلوتن ذرت در بلدرچین ژاپنی در حال رشد انجام شد.

مواد و روش‌ها

محل اجرای آزمایش

این آزمایش بر اساس پروتکل مصوب دانشگاه فردوسی مشهد برای رعایت حقوق و آسایش پرندگان در مزرعه پژوهشکده دام‌های خاص دانشگاه زابل انجام شد و جوجه‌های یک‌روزه بلدرچین ژاپنی از گله اصلاح شده این مرکز تهیه شد.

آماده سازی سالن و مدیریت پرورش

سالن و تجهیزات داخل سالن با استفاده از آب گرم تحت فشار شستشو و سپس با استفاده از محلول ضد عفونی کننده مورد ضدعفونی قرار گرفت. آرایش واحدهای آزمایشی، تأسیسات گرمایشی و تهویه در سالن برای تمامی واحدهای آزمایشی به صورت یکسان طراحی گردید. 24 ساعت قبل از انتقال جوجه‌های بلدرچین به سالن، دمای آن تنظیم شد. درجه حرارت سالن انجام آزمایش در هفته اول، دوم و سوم به ترتیب 35، 29 و 26 درجه سانتی‌گراد تنظیم شد و رطوبت نسبی سالن 60- 55 درصد بود. پرندگان به‌صورت آزادانه به آب و جیره‌های آزمایشی دسترسی داشتند و در کل دوره آزمایش برنامه نوری 23 ساعت روشنایی و یک ساعت تاریکی اجرا شد.

تیمارها و جیره‌های آزمایشی

جیره استاندارد برای تأمین احتیاجات غذایی توصیه شده (14) از روز اول تا روز سیزدهم در اختیار جوجه‌ها قرار گرفت و در سن 14 روزگی تعداد 600 قطعه جوجه بلدرچین ژاپنی به‌صورت تصادفی در 20 پن شامل 5 تیمار، 4 تکرار و 30 قطعه پرنده در هر پن قرار گرفتند. قبل از شروع آزمایش تمام مواد خوراکی برای اسیدهای آمینه با استفاده از دستگاه HPLC (مدل Young Lin SP930D) و بر اساس روش‌های توصیه شده (7) در 3 تکرار آنالیز شدند (جدول1). پنج جیره آزمایشی شامل جیره فاقد نیتروژن، ذرت، گندم، کنجاله سویا و کنجاله گلوتن ذرت به نحوی تهیه شدند که ماده خوراکی مورد آزمایش در هر جیره، تنها منبع پروتئین و اسیدهای آمینه باشد. دی اکسید تیتانیوم به عنوان مارکر غیر قابل هضم به مقدار 5 گرم در کیلوگرم به تمام جیره‌ها اضافه شد. جیره فاقد نیتروژن بر اساس نشاسته ذرت و دکستروز فرموله گردید (جدول 2). برای تعیین تیتانیوم از روش رنگ سنجی استفاده شد. پروفایل اسیدهای آمینه برای مواد خوراکی شامل ذرت، کنجاله سویا، کنجاله گلوتن ذرت و گندم با استفاده از روش هیدرولیز اسیدی و کروماتوگرافی تعیین شد و برای اندازه‌گیری مقدار دفع درون‌زادی پایه اسیدهای آمینه از جیره فاقد نیتروژن استفاده گردید.

نمونه‌گیری

در پایان آزمایش (سن 21 روزگی) تمام پرنده‌های هر پن (جایگاه بستری) توسط تزریق درون قلبی سدیم باربیتول کشته شدند و محتویات ایلئوم به آرامی جمع‌آوری و پس از مخلوط شدن برای هر پن بلافاصله انجماد خشک شدند. ایلئوم به عنوان بخشی از روده که از زائده مکل شروع شده و تا 25 میلی متری قبل از محل اتصال سکوم و ایلئوم در نظر گرفته شد.

اندازه‌گیری اسیدهای آمینه نمونه‌ها

نمونه‌های ایلئومی بلافاصله به‌صورت فریز شده به آزمایشگاه گروه علوم دامی دانشگاه فردوسی مشهد انتقال و انجماد خشک شد. سپس نمونه‌ها به آزمایشگاه سازمان انرژی اتمی در تهران انتقال و محتوی اسیدهای آمینه ضروری آنها با استفاده از دستگاه HPLC و بهره‌گیری از روش استاندارد (7) آنالیز گردید.

مدل آماری طرح به صورت زیر بود:

$Y_{ij}=\mu+T_i+ +e_{ij}$

μ= میانگین مشاهدات

T_i= اثر تیمار

e_{ij}= خطای آزمایش

جدول 1- مقادیر اسیدهای آمینه موجود در خوراک‌های مورد آزمایش (درصد؛ هوا خشک)

Table 1- The amounts of amino acids in the tested ingredients (%; As is basis)

	گندم Wheat	گلوتن ذرت Corn Gluten meal	کنجاله سویا Soybean meal	ذرت Corn
متیونین Methionine	0.186	1.393	0.641	0.177
سیستین Cystine	0.260	0.975	0.680	0.189
متیونین+ سیستین Methionine + Cystine	0.446	2.363	1.320	0.368
لیزین Lysine	0.351	0.928	2.872	0.244
ترئونین Threonine	0.336	1.911	1.862	0.299
تریپتوفان Tryptophan	0.140	0.323	0.636	0.063
والین Valine	0.501	2.630	2.292	0.395
آرژنین Arginine	0.581	1.812	3.375	0.402
ایزولوسین Isoleucine	0.395	2.298	2.212	0.282
لوسین Leucine	0.776	9.255	3.655	0.987
هیستیدین Histidine	0.278	1.165	1.244	0.243
فنیل آلانین Phenylalanine	0.515	3.505	2.451	0.405

داده‌ها به‌روش یکطرفه ANOVA در نرم‌افزار Graphad آنالیز آماری شدند و از آزمون توکی در سطح معنی‌داری 5 درصد برای مقایسه میانگین‌ها استفاده شد.

نتایج و بحث

تعیین مقادیر اتلاف درون‌زادی اسیدهای آمینه

میزان دفع درون‌زادی پایه اسیدهای آمینه متیونین، لیزین، ترئونین، آرژنین، والین، ایزولوسین، لوسین و هیستیدین به‌ترتیب 32/6، 306، 241، 104، 355، 497، 49/6 و 80/1 میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک مصرفی توسط جوجه بلدرچین‌های 14 تا 21 روزگی به‌دست آمد. بیشترین میزان اتلاف درون‌زادی پایه مربوط به اسید آمینه ایزولوسین به مقدار 497 میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک مصرفی بود (جدول 3).

مواد خوراکی حاوی پروتئین با الگوی متفاوت اسیدهای آمینه‌ای هستند که با توجه به نیازمندی‌های هر پرنده و توسعه دستگاه گوارش برای هضم و جذب آنها با مقادیر مشخص در جیره گنجانده می‌شوند. از آنجایی‌که تمامی محتوای اسید آمینه خوراک‌ها به‌طور کامل در دستگاه گوارش پرندگان هضم و جذب نمی‌شوند، استفاده از مقادیر کل اسیدهای آمینه با فرض اینکه همه این اسیدهای آمینه تأمین‌کننده نیازهای بدن هستند، گمراه‌کننده بوده و در بخش صنعت باعث کاهش تولید و سودآوری می‌شود. بنابراین، ضروری است جهت اطمینان از تأمین احتیاجات بدن، بخش غیرقابل هضم اسیدهای آمینه هر خوراک تفکیک شده و اسیدهای آمینه قابل هضم ملاک فرمولاسیون جیره‌ها باشد. بیش از چند دهه مطالعه در مورد اسیدهای آمینه مشخص شده است که از میان روش‌های مختلف برای اندازه‌گیری قابلیت هضم، نمونه‌گیری از ایلئوم بر جمع‌آوری فضولات به واسطه حذف پروتئین میکروبی روده‌های کور ارجحیت دارد (18). نمونه‌های ایلئومی علاوه بر بخش خوراک، در برگیرنده اسیدهای آمینه با منشأ درون‌زادی نیز هستند و قابلیت هضم ایلئومی ظاهری تعریف می‌شوند. مقادیر قابلیت هضم ظاهری به هنگام جیره نویسی جمع‌پذیر نیستند؛ به‌ویژه زمانی که در ترکیب جیره از خوراک‌هایی با ویژگی‌های خاص مانند فیبر زیاد و یا بالابود مواد ضد تغذیه‌ای استفاده شود. از این رو لازم است یک سری تصحیحات برای افزایش جمع پذیری ضرایب هضمی انجام شود. برای اعمال این تصحیحات، اندازه‌گیری اتلاف درون‌زادی اسیدهای آمینه ضروری است.

جدول 2- اجزای تشکیل دهنده جیره‌های آزمایشی

Table 2- Composition of experimental diets

ماده خوراکی (٪) Ingredient (%)	جیره فاقد نیتروژن N-free diet	کنجاله گلوتن ذرت Corn gluten meal	ذرت Corn grain	کنجاله سویا Soybean meal	گندم Wheat grain
ماده خوراکی مورد آزمایش Test ingredient	-	30.95	80.0	40.0	88.0
نشاسته ذرت Corn starch	66.26	64.14	16.33	55.38	7.30
ساکارز Sucrose	24.30	-	-	-	-
فیبر Solk-floc	5.00	-	-	-	-
دی کلسیم فسفات Dicalcium Phosphate	1.50	0.84	-	1.27	1.39
کربنات پتاسیم K_2CO_3	1.36	0.50	0.36	-	-
جوش شیرین $NaHCO_3$	-	0.50	0.50	-	-
اکسید تیتانیوم TiO_2	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
مکمل ویتامینه Vitamin premix[1]	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
مکمل مواد معدنی Mineral premix[2]	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
نمک طعام NaCl	0.38	0.36	0.20	0.35	0.31
اکسید منیزیم MgO	0.10	0.10	0.10	1.00	1.00
کولین کلراید Choline chloride	0.10	0.10	0.10	1.00	1.00
کربنات کلسیم CaCO3	-	1.51	1.41	-	-
ترکیبات جیره (محاسبه شده) Calculated composition					
انرژی قابل متابولیسم (kcal/kg) AME (kcal/kg)	3410	3590	3400	3620	2830
پروتئین خام (٪) Crude protein (%)	-	18.0	6.34	19.50	12.32
کلسیم (٪) Ca (%)	0.80	1.00	1.00	1.00	1.00
سدیم Na (g/kg)	0.15	0.16	0.23	0.15	0.16
پتاسیم K (g/kg)	0.60	0.40	0.40	0.80	0.40
کلر Cl (g/kg)	0.23	0.23	0.15	0.23	0.23
تعادل الکترولیتی جیره (کیلوگرم جیره/میلی اکی والان) DEB[3] (mEq/kg)	210.0	311.9	118.6	206.1	242.1
فیبر خام Crude fiber (g/kg)	4.95	2.40	1.76	2.80	2.64
کربوهیدرات‌های غیرنشاسته‌ای (٪) NSP[4] (%)	-	2.34	7.55	12.30	10.60

[1] مکمل مواد معدنی در هرکیلوگرم از جیره مواد مغذی زیر را تأمین می‌کرد: منگنز، 100 میلی‌گرم؛ سلنیوم، 0/2 میلی‌گرم؛ ید، 1 میلی‌گرم؛ مس، 100 میلی‌گرم؛ آهن، 50 میلی‌گرم.

[2] مکمل ویتامینی در هر کیلوگرم از جیره مواد مغذی زیر را تأمین می‌کرد: ویتامین A، 11000 واحد بین‌المللی؛ کوله کلسیفرول، 2300 واحد بین المللی؛ ویتامین E، 121 واحد بین المللی؛ ویتامینK_3، 2 میلی‌گرم؛ ویتامین B12، 0/02 میلی‌گرم؛ تیامین، 4 میلی‌گرم؛ ریبوفلاوین، 4 میلی‌گرم؛ اسید فولیک، 1 میلی‌گرم؛ بیوتین، 0/03 میلی‌گرم؛ پیریدوکسین، 4 میلی‌گرم؛ کولین کلراید، 840 میلی‌گرم؛ اتوکسی کوئین، 0/125 میلی‌گرم.

[1]Mineral premix provided per kilogram of diet: Mn, 100 mg; Se, 0.2 mg; I, 1.0 mg; Cu, 100 mg; Fe, 50 mg.

[2]Vitamin premix provided per kilogram of diet: vitamin A, 11,000 IU; cholecalciferol, 2,300 IU; vitamin E, 121 IU; vitamin K_3, 2.0 mg; vitamin B_{12}, 0.02 mg; thiamin, 4.0 mg; riboflavin, 4.0 mg; folic acid, 1.0 mg; biotin, 0.03 mg; pyridoxine, 4.0 mg; choline chloride, 840 mg; ethoxyquin, 0.125 mg.

[3]DEB: Dietary electrolyte balance

[4]NSP: Non starch polysaccharides

جدول 3- اتلاف درون‌زادی پایه برخی از اسیدهای آمینه در بلدرچین ژاپنی در حال رشد در سن 21-14 روزگی (میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک مصرفی)

Table 3- Endogenous loss of some amino acids in growing quail chicks from 14 to 21 d of age (mg/kg DM diet)

اسید آمینه Amino acid	میانگین Mean	انحراف استاندارد SD
متیونین Methionine	32.6	5.99
لیزین Lysine	306	28.0
ترئونین Threonine	241	52.5
آرژنین Arginine	104	4.23
والین Valine	355	53.0
ایزولوسین Isoleucine	497	77.7
لوسین Leucine	49.6	7.29
هیستیدین Histidine	80.1	7.99

SD: Standard deviation

قابلیت هضم ظاهری ایلئومی اسیدهای آمینه ضروری

مقادیر قابلیت هضم ظاهری اسیدهای آمینه متیونین، لیزین، ترئونین، آرژنین، والین، ایزولوسین، لوسین و هیستیدین به عنوان اسیدهای آمینه ضروری در ذرت به ترتیب 92/40، 70/38، 79/76، 88/99، 84/75، 75/55، 93/58، 94/30 درصد؛ در گندم به ترتیب 90/80، 86/47، 82/63، 86/70، 88/33، 79/45، 77/96 و 81/24 درصد؛ در کنجاله سویا به ترتیب 94/73، 81/96، 80/09، 91/14، 81/54، 85/13، 80/47، 19/ 95 درصد به‌دست آمد. این اسیدهای آمینه در کنجاله گلوتن ذرت به ترتیب 86/04، 67/84، 76/82، 89/51، 83/73، 91/18، 76/15 و 67/53 درصد به‌دست آمد (جدول 4).

تفاوت میان هر یک از اسیدهای آمینه در 4 ماده خوراکی مورد آزمایش معنی‌دار بود. کمترین میزان قابلیت هضم ظاهری لیزین در ذرت و کنجاله گلوتن ذرت مشاهده شد و بیشترین میزان آن در گندم و کنجاله سویا بود.

قابلیت هضم ظاهری آرژنین به‌طور معنی‌داری کمتر از قابلیت هضم ظاهری آن در کنجاله سویا بود ولی تفاوت معنی‌داری با کنجاله گلوتن ذرت نشان نداد. قابلیت هضم ظاهری ایزولوسین در ذرت و گندم به‌طور معنی‌داری (P<0/001) از مقدار آن در کنجاله سویا و کنجاله گلوتن ذرت کمتر بود. بیشترین قابلیت هضم ایزولوسین در کنجاله گلوتن ذرت دیده شد و مقدار آن در کنجاله سویا به‌طور معنی‌داری از کنجاله گلوتن ذرت کمتر بود. قابلیت هضم ظاهری لوسین بیشترین مقدار را در ذرت داشت و مقدار آن در سایر مواد خوراکی تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نشان ندادند. بیشترین مقدار قابلیت هضم ظاهری هیستیدین در ذرت و کنجاله سویا مشاهده شد و به ترتیب قابلیت هضم ظاهری آن در گندم و کنجاله گلوتن ذرت کاهش معنی‌داری نشان داد (P<0/001).

تحقیقات نشان دادند که نوع ماده خوراکی و میزان اسیدهای آمینه موجود در آنها بر ضرایب قابلیت هضم ظاهری تأثیر معنی‌داری دارند. این تفاوت در واقع مربوط به تغییر سهم بخش درون‌زادی در مقدار مجموع اسیدهای آمینه محتویات ایلئوم است. واسان و همکاران (20) مطالعه مقایسه‌ای میان قابلیت هضم ظاهری اسیدهای آمینه برخی غلات را در خروس‌های بالغ و بلدرچین‌های بالغ انجام دادند. اسیدهای آمینه متیونین، ترئونین، آرژنین، ایزولوسین، والین در ذرت اختلاف چندانی در مطالعه حاضر و واسان و همکاران (20) نشان ندادند. در حالی‌که اسیدهای آمینه لیزین، ایزولوسین، در مطالعه آن محققان بیشتر و مقدار AID هیستیدین کمتر از یافته‌های تحقیق حاضر است.

آددکن و همکاران (1) عنوان نمودند که سن پرنده یکی از عوامل مهم در تفاوت ضرایب AID به واسطه اختلاف در سهم جریان درون‌زادی اسیدهای آمینه است. در این مطالعه مروری، جریان اسیدهای آمینه درون‌زادی در پرنده‌های جوان بیشتر از پرندگان بالغ بود. یکی از دلایل محتمل، توسعه بیشتر دستگاه گوارش در پرنده‌های بالغ بوده و باز جذب اسیدهای آمینه درون‌زادی در دستگاه گوارش با راندمان بیشتری انجام می‌شود. بنابراین می‌توان انتظار داشت که تأثیر جریان درون‌زادی اسیدهای آمینه بر مقادیر قابلیت هضم برآورد شده در پرندگان جوان‌تر از اهمیت بالاتری برخوردار باشد.

جدول 4- مقادیر قابلیت هضم ظاهری ایلئومی اسیدهای آمینه در برخی از مواد خوراکی اندازه‌گیری شده در بلدرچین ژاپنی (از 14 تا 21 روزگی) (درصد).

Table 4- Amounts of apparent ileal digestibility of essential amino acids of some feed ingredients measured with Japanese quail (from 14 to 21 days of age) (percent).

اسید آمینه Amino acid	ذرت Corn grain	گندم Wheat grain	کنجاله سویا Soybean meal	کنجاله گلوتن ذرت Corn gluten meal
متیونین Methionine	92.40	90.80	94.73	86.04
لیزین Lysine	70.38	86.47	81.96	67.84
ترئونین Threonine	79.76	82.63	80.09	76.82
آرژنین Arginine	88.99	86.70	91.14	89.51
والین Valine	84.75	88.33	81.54	83.73
ایزولوسین Isoleucine	75.55	79.45	85.13	91.18
لوسین Leucine	93.58	77.96	80.47	76.15
هیستیدین Histidine	94.30	81.24	95.19	67.53

قابلیت هضم استاندارد شده ایلئومی اسیدهای آمینه ضروری

مقادیر قابلیت هضم استاندارد شده اسیدهای آمینه متیونین، لیزین، ترئونین، آرژنین، والین، ایزولوسین، لوسین و هیستیدین به عنوان اسیدهای آمینه ضروری در ذرت به ترتیب 94/48، 83/96، 88/33، 89/80، 92/15، 94/0 و 97/53 درصد؛ در گندم به ترتیب 92/54، 95/48، 89/81، 88/48، 90/11، 84/17 و 84/15 درصد؛ در کنجاله سویا به ترتیب 95/27، 83/08، 81/47، 91/45، 87/82، 81/92 و 85/87 درصد و در کنجاله گلوتن ذرت به ترتیب 86/27، 71/23، 78/03، 90/11، 93/23، 76/21 و 74/38 درصد به‌دست آمد. به‌طورکلی بیشترین مقدار ضرایب قابلیت هضم استاندارد شده متیونین، لیزین و آرژنین در کنجاله سویا و ترئونین در دانه ذرت به‌دست آمد. (جدول 5).

اسید آمینه متیونین کمترین مقدار قابلیت هضم استاندارد شده را در کنجاله گلوتن ذرت داشت و علی‌رغم اینکه با گندم تفاوت معنی‌داری نشان نداد در مقایسه با کنجاله سویا و ذرت این کاهش معنی‌دار بود. همانند متیونین، لیزین و ترئونین، والین و لوسین نیز کمترین میزان قابلیت هضم را در کنجاله گلوتن ذرت داشتند.

ترئونین بیشترین قابلیت هضم استاندارد شده را در ذرت و گندم داشت و کمترین میزان قابلیت هضم ترئونین در کنجاله سویا و کنجاله ذرت مشاهده شد. اسید آمینه آرژنین تفاوت معنی‌داری در میزان قابلیت هضم استاندارد شده میان مواد خوراکی مورد آزمایش نداشت. والین در گندم و ذرت بیشترین قابلیت هضم استاندارد شده را داشت و مقدار آن در کنجاله سویا و کنجاله گلوتن ذرت کمترین بود. همانند اسید آمینه آرژنین مقدار قابلیت هضم استاندارد شده ایزولوسین میان 4 ماده خوراکی مورد آزمایش معنی‌دار نبود. قابلیت هضم استاندارد شده لوسین در گندم و ذرت بیشترین مقدار را نشان داد اما میان مقادیر محاسبه شده در گندم، کنجاله سویا و کنجاله گلوتن ذرت تفاوت معنی‌داری دیده نشد.

جدول 5- مقادیر قابلیت هضم استاندارد شده ایلئومی اسیدهای آمینه در برخی از مواد خوراکی اندازه‌گیری شده در بلدرچین ژاپنی (از 14 تا 21 روزگی) (درصد).

Table 5- Amounts of standardized ileal digestibility of essential amino acids of some feed ingredients measured with Japanese quail (from 14 to 21 days of age) (percent).

اسید آمینه Amino acid	ذرت Corn grain	گندم Wheat grain	کنجاله سویا Soybean meal	کنجاله گلوتن ذرت Corn gluten meal
متیونین Methionine	94.48	92.54	95.27	86.27
لیزین Lysine	83.96	95.48	83.08	71.23
ترئونین Threonine	88.33	89.81	81.47	78.03
آرژنین Arginine	89.80	88.48	91.45	90.11
ایزولوسین Isoleucine	92.15	90.11	87.82	93.23
لوسین Leucine	94.00	84.17	81.92	76.21
هیستیدین Histidine	97.53	84.15	85.87	74.38

با توجه به ترکیب اسیدهای آمینه موسین، می‌توان انتظار داشت که اتلاف موسین قابلیت هضم اسیدهای آمینه غیرضروری را بیش از اسیدهای آمینه به استثنای ترئونین را تحت تأثیر قرار دهد. موسین دارای مقادیر زیادی اسیدگلوتامیک، اسید آسپارتیک، سرین، گلایسین و ترئونین است که از میان اسیدهای آمینه تنها ترئونین اسیدآمینه ضروری به شمار می‌رود (5).

مقایسه قابلیت هضم ظاهری و استاندارد شده ایلئومی اسیدهای آمینه به تفکیک در هر ماده خوراکی

اسیدهای آمینه متیونین، آرژنین، لوسین و هیستیدین به لحاظ قابلیت هضم ظاهری و استاندارد شده در ذرت تفاوت معنی‌داری نشان ندادند در حالی‌که لیزین، ترئونین و ایزولوسین قابلیت هضم استاندارد شده بیشتری نسبت به ظاهری داشتند. به‌طور میانگین قابلیت هضم ظاهری اسیدهای آمینه در ذرت کمتر از قابلیت هضم استاندارد شده آنها بود.

در گندم، اسیدهای آمینه ضروری شامل متیونین، ترئونین، آرژنین، لوسین، هیستیدین و والین تفاوت معنی‌داری بین ضرایب قابلیت هضم ظاهری و استاندارد شده نشان ندادند. اما اسیدهای آمینه لیزین و ایزولوسین به‌طور معنی‌داری ضرایب قابلیت هضم استاندارد شده بیشتری نسبت به ضرایب قابلیت هضم ظاهری داشتند. به‌طور میانگین قابلیت هضم ظاهری اسیدهای آمینه در گندم کمتر از قابلیت هضم استاندارد شده آنها بود. ضرایب قابلیت هضم استاندارد شده و ظاهری مربوط به اسیدهای آمینه ضروری در کنجاله سویا و کنجاله گلوتن ذرت تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نشان ندادند.

در این تحقیق نشان داده شد که رفتار اسیدهای آمینه در 4 ماده خوراکی مورد مطالعه با یکدیگر تفاوت داشته و میزان اختلاف میان ضرایب AID نسبت به SID تا حدودی بیشتر است. برای مثال آرژنین و ایزولوسین به عنوان دو اسید آمینه ضروری در جیره طیور به لحاظ قابلیت هضم ظاهری بین گندم، ذرت، کنجاله سویا و کنجاله گلوتن ذرت تفاوت معنی‌داری را نشان داد؛ در حالی‌که با تصحیح اتلاف درون‌زادی پایه، تفاوت ضرایب قابلیت هضم استاندارد شده آنها در بین خوراک‌ها معنی‌دار نبود.

ما در این مطالعه قابلیت هضم ظاهری برخی اسیدهای آمینه را در 4 ماده خوراکی در سن 21-14 روزگی محاسبه کرده و بر اساس اتلاف درون‌زادی پایه، تصحیح ضرایب قابلیت هضم ظاهری برای رسیدن به ضرایب SID انجام شد. ضرورت تصحیح ضرایب AID برای مقادیر دفع درون‌زادی مشخص می‌شود. به دلیل عدم وجود گزارشی در مورد اتلاف درون‌زادی پایه در بلدرچین برای گندم، کنجاله سویا، کنجاله گلوتن ذرت و ذرت نیز رفتار متفاوت اسیدهای آمینه در هر خوراک (که خود تابعی از غلظت آنهاست) نمی‌تواند

استدلال‌های مربوط به جوجه گوشتی را در مورد آنها تعمیم داد. اما آنچه که مسلم است این است که مقایسه ضرایب AID و SID و لزوم تصحیح ضرایب AID در بلدرچین‌های 21-14 روزه است. که نتیجه با آنچه که توسط (2) گزارش شده است تطابق دارد. در سن 14 تا 21 روزگی ذرت و گندم اختلاف معنی‌داری میان ضرایب AID و SID نشان دادند که این اختلاف را به‌خوبی می‌توان در جدول 6 برای لیزین، ترئونین، ایزولوسین و والین مشاهده نمود. همانطور که در جدول 3 مشاهده می‌شود، دفع درون‌زادی این 4 اسید آمینه نسبت به سایر اسیدهای آمینه بیشتر بوده و تصحیح ضرایب AID این اسیدهای آمینه برای دفع درون‌زادی ضرورت بیشتری دارد. لوسین و متیونین کمترین میزان دفع درون‌زادی را نشان دادند اما همین ضرایب AID و SID در ضرایب در کنجاله سویا و کنجاله گلوتن ذرت معنی‌دار نبود که دلیل آن بیشتر بودن سطح پروتئین و پروفایل اسیدهای آمینه در این دو کنجاله پروتئینی می‌باشد.

جدول 6- مقایسه قابلیت هضم ظاهری و استاندارد شده اسیدهای آمینه در بلدرچین ژاپنی به تفکیک در هر ماده خوراکی (از 14 تا 21 روزگی) (درصد)[1]

Table 6- Comparison of apparent (AID) and standardized (SID) ileal digestibility of amino acids for each feed ingredient in growing quail chicks from 14 to 21 d of age (%)[1]

اسید آمینه Amino acid	ذرت Corn grain		گندم Wheat grain		کنجاله سویا Soybean meal		کنجاله گلوتن ذرت Corn gluten meal	
	AID	SID	AID	SID	AID	SID	AID	SID
متیونین Methionine	92.40	94.48	90.80	92.54	94.73	95.27	86.04	86.27
لیزین Lysine	70.38[b]	83.96[a]	86.47[b]	95.48[a]	81.96	83.08	67.84	7123
ترئونین Threonine	79.76[b]	88.33[a]	82.63	89.80	80.09	81.47	76.82	78.03
آرژنین Arginine	88.99	89.80	86.70	88.48	91.14	91.45	89.51	90.11
ایزولوسین Isoleucine	75.55[b]	92.15[a]	79.45[b]	90.11[a]	85.13	87.82	91.18	93.23
لوسین Leucine	93.58	94.0	77.96	84.17	80.47	81.92	76.15	76.21
هیستیدین Histidine	94.30	97.53	81.24	84.15	95.19	85.87	67.53	74.38
میانگین Mean	86.03[b]	90.63[a]	85.33[b]	89.04[a]	88.14	88.94	81.31	82.78
SEM[2]	0.446	0.446	0.615	0.615	0.356	0.356	0.910	0.910
P-value	0.001	0.001	0.001	0.001	0.730	0.730	0.946	0.946

[1]در هر ردیف برای هر خوراک حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار می‌باشد (p< 0/05).

[1] Means without common superscript within a row for each ingredient are significantly different (p<0.05).

[2]SEM: Standard Error of Means

آددکن و همکارن (2) و راویندران و برایدن (18) به این تفاوت میان ضرایب ظاهری و حقیقی در خوراک‌های با پروتئین بالا و پروتئین کمتر اشاره نمودند. به‌طوریکه هر چه میزان دریافت پروتئین و اسیدهای آمینه در خوراک‌های با میزان پروتئین کم در دستگاه گوارش کمتر باشد، سهم نسبی ترشحات درون‌زادی افزایش می‌یابد. بنابراین، عدم تفاوت میان ضرایب AID و SID در کنجاله سویا و کنجاله گلوتن ذرت می‌تواند ناشی از همین اثر باشد. در مقابل، ذرت و گندم با مقدار کمتر پروتئین و ورود به دستگاه گوارش سهم کمتری در اسیدهای آمینه محتویات روده نسبت به کنجاله سویا و کنجاله گلوتن ذرت خواهند داشت.

با توجه به نتایج این پژوهش، بیشترین مقدار ضرایب قابلیت هضم استاندارد شده هیستدین، متیونین، لیزین و آرژنین در کنجاله

سویا و ترئونین در دانه ذرت به‌دست آمـد. از طـرف دیگـر، کمتـرین مقدار ضرایب قابلیت هضم ایلئومی اسـتاندارد شـده بـرای اسـیدهای آمینه مذکور به ترتیب در کنجاله گلوتن ذرت، ذرت و گندم به‌دسـت آمد. همچنین، مقایسه نتایج این پژوهش با گونه‌های دیگر پرنـدگان نشان داد که قابلیت هضم ظاهری و استاندارد شده ایلئومی اسیدهای آمینه ضروری در خوراک‌های ذرت، گنـدم، کنجالـه سـویا و کنجالـه گلوتن ذرت در بلدرچین ژاپنی در حال رشد نسبت به جوجـه گوشـتی متفاوت است.

منابع

1. Adedokun, S. A., K. M. Ajuwon, L. F. Romero, and O. Adeola. 2012. Ileal endogenous amino acid loss: Response of broiler chickens to fiber and mild coccidial vaccine challenge. Poultry Science, 91: 899-907.
2. Adedokun, S., C. Parsons, M. Lilburn, O. Adeola, and T. Applegate. 2007a. Endogenous amino acid flow in broiler chicks is affected by the age of birds and method of estimation. Poultry Science, 86: 2590-2597.
3. Adedokun, S., C. Parsons, M. Lilburn, O. Adeola, and T. Applegate. 2007b. Standardized ileal amino acid digestibility of meat and bone meal from different sources in broiler chicks and turkey poults with a nitrogen-free or casein diet. Poultry Science, 86: 2598-2607.
4. Adedokun, S., O. Adeola, C. Parsons, M. Lilburn, and T. Applegate. 2011. Factors affecting endogenous amino acid flow in chickens and the need for consistency in methodology. Poultry Science, 90: 1737-1748.
5. Allen, A. 1989. Gastrointestinal mucus. Handbook of Physiology - The Gastrointestinal System III. USA, Bethesda. Pages 359-382.
6. Angkanaporn, K., V. Ravindran, and W. Bryden. 1996. Additivity of apparent and true ileal amino acid digestibilities in soybean meal, sunflower meal, and meat and bone meal for broilers. Poultry Science, 75: 1098-1103.
7. AOAC International. 2006. Official Methods of Analysis of AOAC International. 18th ed. AOAC Int., Gaithersburg, MD.
8. Ashoori, M., G. Jalilvand, M. Mehri, G. Zaboli, and M. Ghazaghi. 2013. Estimation of digestible lysine requirements of japanese quail during the starter period. Iranian Journal of Animal Science Research, 5 (2): 105-111. (In persian).
9. Batterham, E. S. 1992. Availability and utilizationof amino acids for growing pigs. Nutrition Research Reviews, 5: 1-18.
10. Fernández-Fígares, I., C. Prieto, R. Nieto, and J. Aguilera. 1997. Free amino acid concentrations in plasma, muscle and liver as indirect measures of protein adequacy in growing chickens. Animal Science, 64: 529-539.
11. Fuller, M., and A. Cadenhead. 1991. Effect of the amount and composition of the diet on galactosamine flow from the small intestine. EAAP Publication (Netherlands).
12. Lemme, A., Ravindran, V., Bryden, W., 2004a. Ileal digestibility of amino acids in feed ingredients for broilers. World's Poultry Science Journal 60: 423-438.
13. Mosenthin, R., W. Sauer, R. Blank, J. Huisman, and M. Fan. 2000. The concept of digestible amino acids in diet formulation for pigs. Livestock Production Science, 64: 265-280.
14. NRC, 1994. Nutrient Requirements for Poultry. 9th rev. ed. National Academy Press, Washington, DC.
15. Parsons, C. 1991. Amino acids digestibilities for poultry: feedstuff evaluation and requeriments. Biokyowa Technical Review-1 Nutri-Quest. Inc. Chesterfield, MO.
16. Parsons, C., J. McNab, and K. Boorman. 2002. Digestibility and bioavailability of protein and amino acids. Poultry feedstuffs: supply, composition and nutritive value. Pages 115-135.
17. Perttilä, S., J. Valaja, K. Partanen, T. Jalava, and E. Venäläinen. 2002. Apparent ileal digestibility of amino acids in protein feedstuffs and diet formulation based on total vs digestible lysine for poultry. Animal Feed Science and Technology, 98: 203-218.
18. Ravindran, V., and W. L. Bryden. 1999. Amino acid availability in poultry- in vitro and in vivo measurements. Crop and Pasture Science, 50: 889-908.
19. Summers, D., and A. Robblee. 1985. Comparison of apparent amino acid digestibilities in anesthetized versus sacrificed chickens using diets containing soybean meal and canola meal. Poultry Science, 64: 536-541.

20. Vasan, P., N. Dutta, A. B. Mandal, K. Sharma, and M. M. Kadam. 2008. Comparative digestibility of amino acids of maize, sorghum, finger millet and pearl millet in cockerels and Japanese quails. British Poultry Science, 49:176-180.
21. Yang, Y. X., Z. L. Dai, and W. Y. Zhu. 2014. Important impacts of intestinal bacteria on utilization of dietary amino acids in pigs. Amino Acids, 46: 2489-2501.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 11, No. 3, Fall 2019, p. 353-364

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد 11، شماره 3، پاییز 1398، ص. 364-353

Determination of Apparent and Standardized Ileal Digestibility of Essential Amino Acids of Corn, Wheat, Soybean Meal and Corn Gluten Meal in Japanese Quails During Third Week of Age

Mahmoud Ghazaghi[1], Ahmad Hassanabadi[1*], Mehran Mehri[2]
Received: 12-05-2019
Accepted: 13-07-2019

Introduction:

Excess excretion of nitrogen (N) caused by inaccurate animal feeding might increase the environmental concerns in terms of soil and water pollutions. Nitrogen is one of the most expensive elements in animal nutrition and either under-feeding or over-feeding of this element may be associated with financial losses through the suppressed performance or expensive diets. Determination of nutrient availability could warrant accurate feed formulation to meet animal requirements. Nutrients digestibility determination in poultry is usually carried out by collecting excreta (feces + urine) from the bird or collecting digesta from the ileum. Standardized ileum digestibility is also possible by measuring the endogenous loss of amino acids. endogenous loss of amino acids is affected by the type of protein source, the protein level of the diet, the amount of dietary fiber, the presence of anti-nutritional agents, the method of slaughter, the type of marker used, the age of the bird, the species, diet and body size. Among these factors, the level of amino acids in the diet is a major factor. Therefore, this study was conducted to determine essential amino acids digestibility of corn, wheat, soybean meal and corn gluten meal in Japanese quails during third week of age.

Materials and Methods:

A total of 600 of 14-days-old Japanese quails were assigned in a completely randomized design to five treatments, four replications and 30 birds in each floor pen. The dietary treatments included nitrogen free diet, corn, wheat, soybean meal and corn gluten meal which were prepared in such a way that the test ingredient was the sole source of the protein and amino acids in each diet. The standardized ileal amino acid digestibility (SIAAD) values in aforementioned feeds were determined using direct method, and an N-free diet (NFD) was used to measure the basal endogenous amino acids losses (EAAL) from 14 to 21 d of age. Titanium dioxide was added to all diets as indigestible marker of 5 g / kg. At the end of the experiment, all the birds of each pen were killed by an intracardiac injection of 0.5 mL sodium pentobarbital. Ileal digesta were collected by gentle manipulation and pooled on a replicate basis and were immediately frozen. The ileum was considered as part of the small intestine starting from the Meckel's diverticulum and up to 15 mm before the ileocaecal junction. Titanium was determined colorimetrically and amino acid profiles were determined for corn, soybean meal, corn gluten meal and wheat using acidic hydrolysis and chromatographically. The house temperature was set at 35, 29 and 26 ° C in the first, second and third weeks of age, respectively and the relative humidity of the house was 55-60%. The birds freely accessed water and experimental diets, and 23 h light and one h darkness was considered throughout the experiment. Data were analyzed by one-way ANOVA in Graphpad software and Tukey's test was used to compare the means.

Results and Discussion:

The EAAL values of methionine, lysine, threonine, arginine, valine, isoleucine, leucine, and histidine were determined to be 32.6, 306, 241, 104, 355, 497, 49.6, and 80.1 mg/kg DMI, respectively. The apparent digestibility values of amino acids methionine, lysine, threonine, arginine, valine, isoleucine, leucine, and histidine as a number of essential amino acids in corn were 92.97, 70.38, 79.76, 88.98, 84.75%; in wheat were 90.80, 86.47, 82.63, 86.70, 88.33, 45.79, 96.77, 81.24%; in soybean meal were 94.73, 86.96, 80.09, 14.91, 81.54, 13.85, 80.47, 95.19% and in corn gluten meal were 04.86, 84.67, 82.76, 51.89, 73.83, 18.91, 76.15, 53.67%, respectively. The SIAAD of methionine, lysine, threonine, arginine, valine, isoleucine, leucine, and histidine for corn, wheat, soybean meal, and corn gluten meal were 94.48, 83.96, 88.33, 89.80, 93.85, 92.15, 94.06, 97.53%; 92.54, 95.48, 89.81, 88.48, 94.72, 90.11, 84.17, 84.15%; 95.27, 83.08, 81.48, 91.45, 83.11, 87.82, 81.93,

1-Former Ph.D. student and professor of Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, respectively
2 -Associate professor of Animal Science Department, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran
*Corresponding author Email: hassanabadi@um.ac.ir

95.87%; 86.27, 71.23, 87.03, 90.12, 85.11, 93.23, 76.21, and 74.38%, respectively. Research has shown that the type of ingredients and concentration of diet amino acids have a significant effect on the digestibility coefficients. This difference is in fact due to the changes in the endogenous share of amino acids in the total amount of ileal amino acids.

Conclusion:

Generally, the highest SIAAD coefficients of methionine, lysine, and arginine were obtained in SBM and threonine was obtained in corn. On the other hand, the lowest SIAAD coefficients of these amino acids were observed in corn gluten meal, corn and wheat, respectively. Also, comparing the results of this study with findings from other species showed that the apparent and standardized ileal digestibility of essential amino acids in corn, wheat, soybean meal and corn gluten meal is different in Japanese quail than in broiler chickens.

Key words: Amino acid, Apparent digestibility, Japanese quail, Standardized digestibility.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 11, No. 3, Fall 2019, p. 365-375

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد 11، شماره 3، پاییز 1398، ص. 375-365

تجزیه و تحلیل ژنوتیپی ناحیه‌ی کمپلکس اصلی سازگاری بافتی در مرغ‌های بومی ایران

جعفر پیش‌جنگ آقاجری[1*]، قدرت‌اله رحیمی میانجی[2]، سید حسن حافظیان[3]، محسن قلی‌زاده[4]، قربان الیاسی[5]

تاریخ دریافت: 1397/01/20
تاریخ پذیرش: 1397/03/31

چکیده

ناحیه‌ی MHC مرغ‌ها در پاسخ‌های ایمنی، مقاومت به بیماری‌ها و فرایندهای تکاملی، دارای اهمیت است. در این تحقیق 200 نمونه‌ی خونی از مرغ‌های بومی نژادهای عمومی، آذربایجان غربی، مرندی و مازندرانی اخذ شد و DNAی ژنومی به روش بهینه شده‌ی نمکی استخراج و چندشکلی‌های آللی در جایگاه‌های ژنی B-L، B-F و B-G با استفاده از تکنیک PCR-RFLP بررسی شد. برای شناسایی جهش در جایگاه‌های ژنی یاد شده از آنزیم *Msp I* استفاده شد. در جایگاه ژنی 374 جفت بازی B-L، فقط ژنوتیپ BB اما در جایگاه ژنی 1048 جفت بازی B-F، دو ژنوتیپ CG و GG شناسایی شد. در این جایگاه آلل C شامل باندهای 515، 410، 75 و 47 جفت بازی و آلل G نیز دارای باندهای 410، 302، 213، 75 و 47 جفت بازی بودند. در جایگاه ژنی 401 جفت بازی B-G، سه ژنوتیپ MM، MN و NN و دو آلل M شامل یک باند 401 جفت بازی و آلل N دارای باندهای 350 و 51 جفت بازی مورد شناسایی قرار گرفت. در کل جمعیت‌ها شاخص اطلاعات شانون در دو جایگاه ژنی B-F و B-G به ترتیب 0/37 و 0/59 و شاخص تثبیت به ترتیب 0/13- و 0/17- محاسبه شدند. بیشترین مقدار شاخص هتروزیگوسیتی مشاهده شده برای جایگاه‌های ژنی یاد شده به ترتیب 0/25 و 0/48 برآورد شد. با توجه به وجود چندشکلی در دو جایگاه ژنی B-F و B-G، می‌توان با استفاده از پاسخ ایمنی ژنوتیپ‌های مشاهده شده، از این جایگاه‌ها به عنوان نشانگر برای اصلاح نژاد ژنتیکی جهت افزایش مقاومت مرغ‌های بومی به بیماری‌ها استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: چندشکلی، کمپلکس اصلی سازگاری بافتی، مرغ بومی، PCR-RFLP.

مقدمه

پرورش طیور در کشور ما و گسترش آن سابقه‌ی طولانی دارد. کشور بزرگ ایران قبل و بعد از میلاد، از هند تا دریاهای سیاه و مدیترانه گسترده بود و در مسیر تقاطع راه‌های حمل و نقل خشکی و دریایی برای حمل و نقل محصولات متنوع از جمله طیور قرار داشت. وجود جنگ‌های متعدد در ایران و اطراف آن، باعث تسهیل گسترش طیور به نقاط مختلف شد. بقایای یافت شده از کاوش‌های باستان شناسی در مناطق مختلف (تپه یحیی و تخت سلیمان)، پرورش و نگهداری طیور در زمان‌های قدیم را تأیید می‌کنند (19). از سوی دیگر امروزه اصلاح نژاد بیشتر روی صفات تولیدی متمرکز شده است و برای مدیریت بیماری‌ها عملاً از داروها استفاده می‌شود و نتایج این‌گونه راهبردها کاهش پتانسیل ژنتیکی مقاومت یا تحمل حیوانات در مقابل عوامل عفونت‌زا است. درحالی‌که واقعیت امر باید افزایش مقاومت ژنتیکی حیوانات در مقابل انگل‌ها، کرم‌ها، باکتری‌ها و ویروس‌ها باشد (11). با این حال لازم است با استفاده از روش‌های مولکولی، تنوع پاسخ ایمنی و مقاومت به بیماری مورد بررسی قرار گیرند. پاسخ ایمنی از طریق مقابله‌ی سلول‌های دخیل در ایمنی با عوامل عفونت‌زای مهاجم بروز می‌کند و سلول‌های آلوده و سلول‌هایی که در مهار این آلودگی و تولید آنتی‌ژن‌ها نقش دارند با لنفوسیت‌ها هماهنگی دارند (24). واسطه‌ی اصلی در برقراری ارتباط بین سلول‌های ایمنی و پروتئین‌های غشاء، مولکول‌های وراثتی از جمله کمپلکس اصلی سازگاری بافتی (MHC)، گیرنده‌های سلولی T (TcR) و ایمونوگلوبولین‌ها (گیرنده‌های سلولی B) و پروتئین‌هایی مثل سایتوکین‌ها و آنتی‌بادی‌ها هستند (6، 8، 14). کمپلکس اصلی سازگاری بافتی برای تعداد زیادی از ژن‌ها به خوبی شناسایی شده است و تنوع آللی آن در بیشتر مهره‌داران گزارش شده است (25). این ژن‌ها شامل سه کلاس هستند که از آن‌ها ژن‌های کلاس I و II

1- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده‌ی کشاورزی، واحد مراغه، دانشگاه آزاد اسلامی، مراغه، ایران.
2، 3 و 4- به ترتیب استاد، دانشیار و استادیار گروه علوم دامی، دانشکده‌ی علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.
5- عضو هیات علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان شرقی، تبریز، ایران.
(*- نویسنده مسئول: parsa20012003@yahoo.com)
Doi:10.22067/ijasr.v11i3.71958

بسیار چندشکل هستند (2، 25). ژن‌های بسیار چندشکل کمپلکس اصلی سازگاری بافتی نقش اساسی در تشخیص ایمنی پاتوژن‌ها و پارازیت‌ها بازی می‌کنند (2). در مرغ‌ها ارتباط بین چندشکلی MHC و مقاومت و یا حساسیت در مقابل بیماری‌ها در پژوهش‌های مختلفی مورد بررسی قرار گرفته است. در اغلب گزارش‌های ارائه شده ارتباط بین MHC با مقاومت و یا حساسیت به عوامل عفونت‌زای خاص مثل بیماری مارک مشخص شده است (36). در طیور مهم‌ترین و مؤثرترین ژن‌های کنترل کننده‌ی مقاومت نسبت به بیماری‌ها در کمپلکس اصلی سازگاری بافتی قرار دارند (26). این مجموعه‌ی ژنی در گونه‌های دیگر نیز مولکول‌هایی را کد می‌کند که مسئول عرضه‌ی آنتی‌ژن در سطح سلول‌ها هستند (30). MHC در طیور (مجموعه‌ی B) به شکلی بسیار متراکم روی بازوی کوتاه میکروکروموزوم شماره‌ی 16 قرار دارد و تنها ژن‌های ضروری را داشته و شامل دو جایگاه ژنتیکی B وY- Rfp است که توسط یک ناحیه‌ی غنی و تکراری از ژن‌های کد کننده‌ی RNAی ریبوزومی از یکدیگر جدا شده‌اند (15). جایگاه B در طیور شامل سه کلاس یک، دو و چهار (I، II و IV) که به ترتیب با نام‌هایBF، BL و BG معروف است. مولکول‌های کلاس Iو II تنوع بالایی داشته و مسئول عرضه‌ی آنتی‌ژن‌های داخلی و خارجی به لنفوسیت‌های T هستند (6، 15). ژن‌های MHC با مقاومت یا حساسیت به برخی از بیماری‌های خود ایمن، ویروسی، باکتریایی و انگلی مرتبط هستند. بسیاری از خصوصیات دیگر غیر وابسته به سیستم ایمنی نیز، مثل میزان تولید در دام‌ها، توسط مجموعه‌ی ژنی MHC کنترل می‌شوند. ژن‌های MHC در مرغ‌ها، جهت انتخاب لاین‌های مقاوم به بیماری‌ها با پاسخ دهی بهتر به واکسن‌ها و انتخاب ویژگی‌های پرورشی مؤثر مثل تولید تخم‌مرغ، وزن بدن، میزان جوجه درآوری و باروری مورد توجه قرار می‌گیرند (7). به دلیل نقش کلیدی ژن‌های MHC مرغ‌ها در پاسخ‌های ایمنی، ارتباط با بیماری‌های عفونی و تنوع آن‌ها در ارتباط با تکامل، در دو دهه‌ی اخیر مطالعات زیادی بر روی این ژن‌ها انجام شده است (21). همچنین ارتباط بین ژن‌های MHC با مقاومت یا حساسیت نسبت به برخی از عوامل بیماری‌زا مانند ویروس عامل بیماری مارک (1)، ویروس عامل بیماری بورس عفونی (4)، ویروس تومور سارکومای روس (29)، ویروس عامل نیوکاسل (13)، ویروس لوکوز پرندگان (31)، ویروس عامل آنفلوانزای ماکیان (3، 9) و باکتری‌هایی مثل استافیلوکوک و سالمونلا (10) شناخته شده است.

کیو و همکاران (33) مطالعه‌ای را روی چندشکلی آلل‌های ژن B-L در منطقه‌ی ژنی MHC در مرغ‌های بومی چینی انجام دادند. بعد از تعیین ژنوتیپ به روش PCR-SSCP برای مناطق ژنی 175 جفت بازی و 374 جفت بازی هرکدام به تعداد 30 نمونه انتخاب شده و تعیین توالی شدند. بعد از تجزیه و تحلیل داده‌ها، 31 آلل مختلف بین مرغ‌های بومی چینی مشخص و جایگزینی نوکلئوتیدی برای اولین و دومین جایگاه ژنی به ترتیب 36/76 و 35/29 درصد بود. تشابه توالی برای 31 آلل مختلف نیز در حدود 90/6-99/5 درصد محاسبه شده بود. سیوارامن و کومار (28) چندشکلی جایگاه ژنی B-L به طول 267 جفت باز را با استفاده از سه نوع آنزیم برشی *Hae III*، *Msp I* و *Taq I* روی دو نوع لاین مرغ‌های گوشتی، مورد بررسی قرار دادند که الگوهای برشی مونومورف مشاهده شده بود. همچنین اوه و همکاران (22) اثرات ژنوتیپی جایگاه ژنی B-L را روی صفات اقتصادی مرغ‌های بومی کره‌ای مورد بررسی قرار داده بودند و دو منطقه از این جایگاه ژنی را به طول‌های 427 و 651 جفت باز را تکثیر و با آنزیم برشی *Hae III* برش داده و در نتایج تحقیق خود برای هر جایگاه ژنی، سه نوع ژنوتیپ شناسایی شد. در جایگاه ژنی اول ژنوتیپ TC بیشترین فراوانی (0/8) و در منطقه دوم، ژنوتیپ Mn دارای بیشترین فراوانی (0/88) بود. طبق بررسی‌های آن‌ها ژنوتیپ‌های CC و Mn با صفت وزن بدن در 150 روزگی همبستگی معنی‌داری داشتند.

لیما روزا و همکاران (12) مطالعه‌ای را در 100 قطعه از مرغ بومی برزیلی تخم آبی برای تعیین تغییرات توالی 1048 جفت بازی جایگاه ژنی B-F انجام داده بودند. طبق نتایج به دست آمده در این پژوهش 23 توالی شناسایی که ده تا از توالی‌ها به عنوان توالی جدید گزارش شده بودند. نیکبخت بروجنی و برجسته (21) تنوع ژنتیکی جایگاه ژنی B-F را با استفاده از تکنیک PCR-SSCP در 65 نمونه‌ی DNA شامل 25 نمونه متعلق به جمعیت مادر و 40 نمونه از مرغ‌های تجاری گوشتی آرین مورد بررسی قرار داده بودند. در هر دو جمعیت هفت الگوی مختلف مشخص شد که دو الگو در دو جمعیت مشابه و پنج الگوی دیگر به عنوان الگوی جدید شناسایی شدند.

رای فو و همکاران (23) مطالعه‌ای جهت بررسی چندشکلی ژنتیکی اگزون شماره‌ی دو منطقه‌ی ژنی B-G در هشت نژاد مختلف از مرغ‌های بومی چینی (تیبتان، لانگشان، سیلکی، خیانجو، گیوشی، ایرلوبس سفید، بیجینق و نژاد جنگی) انجام داده بودند. جایگاه ژنی در 557 نمونه تکثیر و تعین توالی شد و 31 آلل جدید شناسایی شد. کیو و همکاران (32) تحقیقی را با استفاده از دو نوع آنزیم برشی روی منطقه‌ی ژنی B-G در هشت نژاد مختلف از مرغ‌های بومی و هیبرید گوشتی انجام دادند. از 381 نمونه‌ی خونی منطقه‌ای به طول 401 جفت باز تکثیر و با استفاده از دو آنزیم برشی متفاوت برش داده شد. با استفاده از آنزیم *Msp I* دو ژنوتیپ AA و AB به ترتیب با فراوانی‌های 0/6276 و 0/3724 و فراوانی آلل‌های A و B به ترتیب 0/8138 و 0/1862 محاسبه شد. با استفاده از آنزیم *Tas I* سه نوع ژنوتیپ مختلف AA، AB و BB به ترتیب با فراوانی‌های 0/0962، 0/4647 و 0/4391 مشاهده و فراوانی آلل‌های A و B به ترتیب 0/3285 و 0/6715 برآورد شده بود.

اگر چه مطالعات ملکولی متعددی روی دام و طیور در ایران انجام شده است (7، 17، 18، 20، 21، 27، 35)، اما تاکنون ناحیه‌ی

کمپلکس اصلی سازگاری بافتی در مرغ‌های بومی ایـران زیـاد مـورد بررسی قرار نگرفته است، لذا در این پژوهش چندشکلی‌های آللـی در ناحیه‌ی کمپلکس اصلی سازگاری بافتی (MHC) دخیـل در سیسـتم ایمنی در برخی از نژادهای مرغ بومی موجود در ایران مـورد بررسـی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

انتخاب نمونه و جمع‌آوری نمونه‌های خون

در این پژوهش 200 نمونه‌ی خونی (هر جمعیت به تعداد 50 عدد) از چهار جمعیت پرورشی نـژادهـای مـرغ بـومی موجـود در موسسـه تحقیقات علوم دامی کشور شامل (مرندی، مازندرانی، عمومی[1]) و امور دام جهاد کشاورزی و منابع طبیعـی آذربایجـان غربـی (نـژاد بـومی آذربایجان غربی) به اندازه‌ی 2-1 میلی‌لیتر خون از سیاهرگ بالی اخذ گردید. نمونه‌های خون در لوله‌های حاوی ماده ضـد انعقـاد خـون در مجاورت یخ به آزمایشگاه ژنتیک و بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مراغه منتقـل و تـا زمـان شـروع اسـتخراج DNAی ژنـومی و آزمایش‌های بعدی، در دمـای 20- درجـه‌ی سـانتی‌گـراد نگـه داری شدند.

اسـتخراج DNAی ژنـومی و واکـنش زنجیـره‌ای پلیمـراز (PCR)

استخراج DNAی ژنومی نمونه‌هـای خـون بـا اسـتفاده از روش بهینه شده‌ی نمکی ارائه شـده توسـط میلـر و همکـاران (16) انجـام گرفت. کمیت DNAهای ژنومی استخراج شده به روش طیف سنجی و با استفاده از اسپکتروفتومتر نانودراپ[2] و کیفیت آن‌ها با الکتروفـورز روی ژل آگارز دو درصد تعیین شد. جهت تکثیر قطعات ژنی مورد نظر برای هر جایگاه ژنی از یک جفـت آغـازگر اختصاصـی اسـتفاده شـد (جدول 1). اختصاصی بودن پرایمرهـای مـورد اسـتفاده، از سـرویس BLAST (Basice Local Alignment Search Tool) در سـایت NCBI بررسی شد.

واکنش PCR در حجم نهایی 20 میکرولیتر شـامل 200 - 100 نانوگرم DNAی ژنـومی، 4 میکرولیتـر Taq DNA polymerase 2X Master mix red(Taq DNA polymerase، بـافر، dNTPs، Red dye و $Mgcl_2$) (سـاخت شـرکت AMPLIQON) و 0/6 میکرولیتر از هر یک از آغازگرهای رفت و برگشـت (سـاخت شـرکت BiONEER) با غلظت 10 پیکومول برای تکثیر منطقه‌ای از اگـزون شماره‌ی 2 به‌اندازه‌ی 374 جفت باز از جایگاه ژنی B-L، انجام گرفت. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در دمای واسرشته سازی اولیه 95 درجـه‌ی سانتی‌گراد به مدت 5 دقیقه و 35 چرخه شامل واسرشته سازی ثانویه در دمای 97 درجه‌ی سانتی‌گراد بـه مـدت 60 ثانیـه، دمـای اتصـال آغازگرها 56 درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت 60 ثانیه، دمـای تکثیـر 72 درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت 90 ثانیه و دمای تکثیر نهایی 72 درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت 8 دقیقه انجام گرفت.

تکثیر منطقه‌ای از اگزون شماره‌ی 2 جایگاه ژنی B-F به‌اندازه‌ی 1048 جفت بـاز، بـا اسـتفاده از واکـنش PCR در حجـم نهـایی 20 میکرولیتر شامل 200 - 100 نانوگرم DNAی ژنومی، 7 میکرولیتـر Taq DNA polymerase 2X Master mix red(Taq DNA polymerase، بافر، dNTPs، Red dye و $Mgcl_2$) (ساخت شـرکت AMPLIQON) و 0/4 میکرولیتر از هر یـک از آغازگرهـای رفـت و برگشت (ساخت شرکت BiONEER) با غلظت 10 پیکومول انجـام گرفت. برای این جایگاه ژنی واکـنش زنجیـره‌ای پلیمـراز بـا دمـای واسرشته سازی اولیه 95 درجه‌ی سانتی‌گراد به مـدت 5 دقیقـه و 30 چرخه شامل واسرشته سازی ثانویه در دمای 95 درجه‌ی سـانتی‌گـراد به مدت 60 ثانیه، دمای اتصال آغازگرها 60 درجه‌ی سانتی‌گـراد بـه مدت 45 ثانیه، دمای تکثیر 72 درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت 45 ثانیه و دمای تکثیر نهایی 72 درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت 5 دقیقه انجام شد.

همچنین تکثیر قسمتی از اگزون شماره‌ی 1 و اگزون شماره‌ی 2 به‌اندازه‌ی 401 جفت باز از جایگاه ژنی B-G بـا اسـتفاده از واکـنش PCR در حجـم نهـایی 20 میکرولیتـر شـامل 200 - 100 نـانوگرم DNAی ژنـومی، 7 میکرولیتـر Taq DNA polymerase 2X Master mix red(Taq DNA polymerase، بافر، dNTPs، Red dye و $Mgcl_2$) (ساخت شرکت AMPLIQON) و 0/4 میکرولیتـر از هر یک از آغازگرهای رفت و برگشت (ساخت شرکت BiONEER) با غلظت 10 پیکومول انجام گرفت. برای این جایگـاه ژنـی واکـنش زنجیره‌ای پلیمراز با دمای واسرشته سازی اولیه 95 درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت 5 دقیقه و 35 چرخه شامل واسرشته سازی ثانویـه در دمـای 95 درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت 30 ثانیه، دمای اتصال آغازگرهـا 50 درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت 30 ثانیه، دمای تکثیر 72 درجه‌ی سانتی-گراد به مدت 30 ثانیه و دمای تکثیر نهایی 72 درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت 4 دقیقه انجام شد.

قطعات تکثیر شده برای هر جایگاه ژنی در حضور نشـانگر وزن مولکولی 100 جفـت بـازی (سـاخت شـرکت Thermo Scientific) روی ژل آگارز دو درصد الکتروفورز شدند و صحت تکثیر قطعات مورد نظر بدون حضور باندهای غیراختصاصی و محصولات ناخواسته تائید شد (شکل 1).

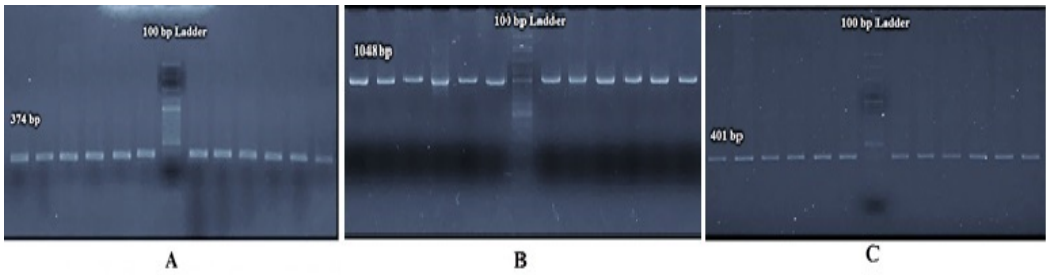
1- این گروه شامل توده‌های ژنتیکی مرغ‌های بومی کشور است و در نقاط مختلف کشور پراکنده بوده و به همین خاطر آن‌ها را مرغ‌های عمومی می‌نامند.

2- THERMO ND - 100 USA

جدول 1 - توالی آغازگرها، اندازه‌ی محصولات PCR و آنزیم‌های برشی برای هضم قطعات

Table 1 - Sequence of primers, the size of PCR products and restriction enzymes for fragments digestion

جایگاه ژنی locus	اندازه‌ی جایگاه ژنی Size of locus	آغازگر Primer	آنزیم برشی Restriction enzyme
B-L	374 bp	F: 5′-CAGCGTTCTTCTTCTGCGGT-3′ R: 5′-TCACCTTGGGCTCCACTGCG-3′	*Msp I* کیو و همکاران (33)
B-F	1048 bp	F: 5′-GCAGAGCTCCATACCCTGCG-3′ R: 5′-GGTGTGGTACGTGCCGTCGCC-3′	*Msp I* لیما روزا (12)
B-G	401 bp	F: 5′-TGTCTCTTCTTCACCTCCACC-3′ R: 5′-GCAGTTCTGTTCTCCCTTCAT-3′	*Msp I* کیو و همکاران (32)



شکل 1 - مشاهده‌ی محصولات PCR برای جایگاه‌های ژنی مورد مطالعه (A: B-L، B: B-F و C: B-G) روی ژل آگارز دو درصد با نشانگر وزن مولکولی 100 جفت باز

Figure 1 - Observation of PCR products for studied loci (A: B-L, B: B-F and C: B-G) on %2 agarose gel with 100 bp molecular weight marker

در پژوهش حاضر از تکنیک PCR-RFLP جهت تعیین چند-شکلی جایگاه‌های ژنی مورد نظر استفاده شد و در این راستا برای هضم آنزیمی محصولات PCR از آنزیم برشی اختصاصی *Msp I* (ساخت شرکت Thermo Scientific) استفاده شد (جدول 1). این واکنش‌ها در حجم نهایی 15/5 میکرولیتر، شامل 5 میکرولیتر محصول PCR، 1 میکرولیتر بافر و 0/5 میکرولیتر آنزیم و در نهایت 9 میکرولیتر آب دو بار تقطیر انجام گرفت. واکنش‌های هضم آنزیمی برای سه جایگاه ژنی در دمای 37 درجه‌ی سانتی‌گراد و به مدت 16 ساعت انجام شد. بعد از هضم آنزیمی محصولات PCR، برای مشاهده‌ی باندها و تعیین الگوهای ژنوتیپی از ژل آگارز چهار درصد و نشانگر وزن مولکولی 50 جفت بازی (ساخت شرکت Thermo Scientific) استفاده شد.

تجزیه و تحلیل ژنتیکی داده‌ها

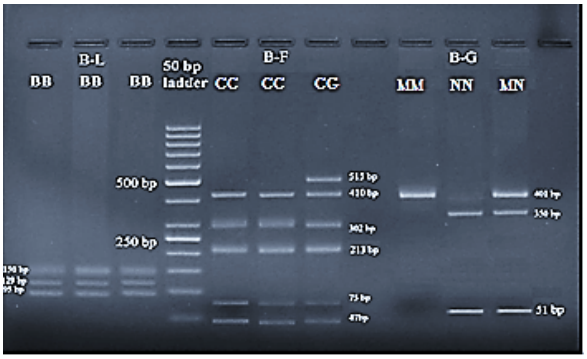
برای آنالیز ژنتیکی داده‌های دیپلوئیدی حاصل از هضم آنزیمی در جمعیت‌های مرغ بومی از نرم‌افزار POPGENE نسخه‌ی 1/32 (34) برای برآورد فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار، متوسط هتروزیگوسیتی، تعادل هاردی - واینبرگ، شاخص تثبیت و شاخص اطلاعات شانون و دیگر پارامترهای ژنتیکی استفاده شد.

نتایج و بحث

بعد از هضم آنزیمی قطعه‌ی ژنی B-L، فقط سه باند 150، 129 و 95 جفت بازی و در نتیجه یک ژنوتیپ (BB) برای این قطعه‌ی ژنی در تمامی نمونه‌ها شناسایی شد. در قطعه‌ی ژنی B-F بعد از هضم آنزیمی دو نوع ژنوتیپ CG و GG برای تمامی نمونه‌ها شناسایی شد. آلل C شامل باندهای 515، 410، 75 و 47 جفت بازی و آلل G نیز دارای باندهای 410، 302، 213، 75 و 47 جفت بازی بودند. همچنین بعد از هضم آنزیمی قطعه‌ی ژنی B-G سه ژنوتیپ MM، MN و NN شناسایی شد که آلل M دارای باند 401 جفت بازی و آلل N دارای باندهای 350 و 51 جفت بازی بودند (شکل 2).

در تحقیق حاضر در مجموع 200 نمونه‌ی مرغ بومی برای سه جایگاه ژنی تعیین ژنوتیپ شدند. جایگاه ژنی B-L مونومورف بوده و در تمامی جمعیت‌ها فقط آلل B شناسایی شد (جدول 2) که با مطالعه‌ی صورت گرفته توسط سیوارامن و کومار (28) مطابقت داشت. آن‌ها این جایگاه ژنی به طول 267 جفت باز را با استفاده از سه نوع آنزیم برشی در دو نوع لاین مرغ‌های گوشتی برش داده که الگوهای برشی مونومورف به دست آمده بودند. در ضمن نتایج تحقیق ما با بررسی‌های اوه و همکاران (22) مطابقت نشان نداد. این محققین این جایگاه ژنی را در مرغ‌های بومی کره‌ای به طول‌های 427 و 651 جفت باز تکثیر و با آنزیم برشی *Hea III* برش داده و برای هر منطقه

مورد مطالعه سه نوع ژنوتیپ شناسایی کردند. احتمالاً تفاوت در نتایج مشاهده شده می‌تواند به دلیل استفاده از آنزیم‌های برشی متفاوت باشد.



شکل 2 - الگوهای ژنوتیپی مشاهده شده حاصل از هضمی آنزیمی محصولات PCR برای هر یک از جایگاه‌های ژنی مورد مطالعه روی ژل آگارز چهار درصد با نشانگر وزن مولکولی 50 جفت باز

Figure 2 - Observed genotypic patterns from enzymatic digestion of PCR products for studied loci on %4 agarose gel with 50 bp molecular weight marker

جدول 2 - فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی، میانگین هتروزیگوسیتی و هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار برای جایگاه ژنی B-L در جمعیت مرغ‌های بومی مورد مطالعه

Table 2 - Allelic and genotypic frequencies, mean heterozygosity and observed and expected heterozygosity for B-L locus in studied indigenous chicken population

		نژاد Breed				کل جمعیت‌ها Total populations
	آلل و ژنوتیپ Allele and Genotype	عمومی Common	آذربایجان غربی W. Azarbaijan	مرندی Marandi	مازندرانی Mazandarani	
فراوانی آللی Allelic frequency	A	0	0	0	0	0
	B	1	1	1	1	1
فراوانی ژنوتیپی مشاهده شده (مورد انتظار) Genotypic frequency ob. (ex.)	AA	-	-	-	-	-
	AB	-	-	-	-	-
	BB	-	-	-	-	-
کای اسکور χ^2		-	-	-	-	-
فراوانی هتروزیگوسیتی (هموزیگوسیتی) مشاهده شده Hetero. (Homo.) observed frequency		0 (1)	0 (1)	0 (1)	0 (1)	0 (1)
فراوانی هتروزیگوسیتی (هموزیگوسیتی) مورد انتظار Hetero. (Homo.) expected frequency		0 (1)	0 (1)	0 (1)	0 (1)	0 (1)
متوسط هتروزیگوسیتی Mean heterozygosity		0	0	0	0	0
شاخص اطلاعات شانون Shannon's Information index		0	0	0	0	0
شاخص تثبیت Fixation index		0	0	0	0	0

در جایگاه ژنی B-F بیشترین مقدار فراوانی آلل‌های C و G به ترتیب در جمعیت مرغ‌های بومی نژادهای عمومی (0/22) و

آذربایجان غربی (0/98) مشاهده شد و در کل جمعیت‌ها فراوانی هتروزیگوسیتی و هموزیگوسیتی مشاهده شده در این جایگاه ژنی به ترتیب برابر 25 و 75 درصد محاسبه شد. χ^2 محاسبه شده در این جایگاه ژنی برای تمامی جمعیت‌ها معنی‌دار نبود ($P < 0/05$) فلذا تمامی جمعیت‌ها در تعادل هاردی - واینبرگ قرار داشتند (جدول 3). این نتایج با تحقیق انجام شده توسط لیما روزا و همکاران (12) که با تکنیک متفاوت روی مرغ بومی برزیلی تخم آبی صورت گرفته بود، مطابقت نداشت. همچنین نتایج تحقیق ما با دو الگوی ژنوتیپی متفاوت CG و GG با نتایج مطالعه‌ی نیکبخت بروجنی و برجسته (21) که روی جمعیت مرغ مادر و هیبریدهای تجاری گوشتی آرین انجام گرفته بود، مطابقت نداشت. تکنیک‌های متفاوت و همچنین سویه‌های متفاوت مورد استفاده در تحقیقات، احتمالاً دلیل در تفاوت در نتایج خواهد بود.

در جایگاه ژنی B-G بیشترین مقدار فراوانی آلل‌های M و N به ترتیب مربوط به مرغ‌های بومی نژادهای آذربایجان غربی (0/44) و مازندرانی (0/84) بود. میانگین فراوانی آلل‌های M و N در کل جمعیت‌ها به ترتیب برابر با 0/28 و 0/72 و همچنین میانگین فراوانی‌های ژنوتیپ‌های MM، MN و NN به ترتیب 0/05، 0/47 و 0/48 برآورد شد. χ^2 محاسبه شده در این جایگاه ژنی برای جمعیت مرغ بومی نژاد مازندرانی معنی‌دار نبود ($P < 0/05$) و جمعیت ذکر شده در تعادل هاردی - واینبرگ قرا داشت. (جدول 4). این نتایج با نتایج تحقیق کیو و همکاران (32) که روی هشت نژاد مختلف از مرغ‌های بومی و مرغ‌های هیبرید تجاری گوشتی انجام شده بود، مطابقت نداشت. تفاوت در فراوانی ژنی و ژنوتیپی می‌تواند به دلیل منشاء متفاوت جغرافیایی این جمعیت‌ها یا سطوح مختلف انتخاب باشد. انحراف از تعادل هاردی - واینبرگ، نشان دهنده‌ی تغییرات در فراوانی آللی در یک جمعیت است. این تغییرات را می‌توان به تعدادی از عوامل از جمله رانش ژنتیکی که در جمعیت‌هایی با تعداد افراد کم رخ می‌دهد، دانست.

جدول 3 - فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی، میانگین هتروزیگوسیتی و هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار برای جایگاه ژنی B-F در جمعیت مرغ‌های بومی مورد مطالعه

Table 3 - Allelic and genotypic frequencies, mean heterozygosity and observed and expected heterozygosity for B-F locus in studied indigenous chicken population

	آل و ژنوتیپ Allele and Genotype	نژاد Breed				کل جمعیت‌ها Total populations
		عمومی Common	آذربایجان غربی W. Azarbaijan	مرندی Marandi	مازندرانی Mazandarani	
فراوانی آللی Allelic frequency	C	0.22	0.02	0.04	0.21	0.12
	G	0.78	0.98	0.96	0.79	0.88
فراوانی ژنوتیپی مشاهده شده (مورد انتظار) Genotypic frequency ob. (ex.)	CC	0 (0.04)	0 (0)	0 (0)	0 (0.04)	0 (0.02)
	CG	0.44 (0.35)	0.04 (0.04)	0.08 (0.08)	o.42 (0.34)	0.25 (0.21)
	GG	0.56 (0.61)	0.96 (0.96)	0.92 (0.92)	0.58 (0.62)	0.75 (0.77)
کای اسکور χ^2		3.76^{ns}	0.01^{ns}	0.06^{ns}	3.33^{ns}	3.80^{ns}
فراوانی هتروزیگوسیتی (هموزیگوسیتی) مشاهده شده Hetero. (Homo.) observed frequency		0.44 (0.56)	0.04 (0.96)	0.08 (0.92)	0.42 (0.58)	0.25 (0.75)
فراوانی هتروزیگوسیتی (هموزیگوسیتی) مورد انتظار Hetero. (Homo.) expected frequency		0.35 (0.65)	0.04 (0.96)	0.07 (0.93)	0.33 (0.67)	0.22 (0.78)
متوسط هتروزیگوسیتی Mean heterozygosity		0.19	0.19	0.19	0.19	0.19
شاخص اطلاعات شانون Shannon's Information index		0.52	0.09	0.16	0.51	0.37
شاخص تثبیت Fixation index		-0.28	-0.02	-0.04	-0.26	-0.13

Ns: Non significant ($P < 0.05$)

جدول 4 - فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی، میانگین هتروزیگوسیتی و هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار برای جایگاه ژنی B-G در جمعیت مرغ‌های بومی مورد مطالعه

Table 4 - Allelic and genotypic frequencies, mean heterozygosity and observed and expected heterozygosity for B-G locus in studied indigenous chicken population

	آلل و ژنوتیپ Allele and Genotype	نژاد Breed: عمومی Common	آذربایجان غربی W. Azarbaijan	مرندی Marandi	مازندرانی Mazandarani	کل جمعیت‌ها Total populations
فراوانی آللی Allelic frequency	M	0.17	0.44	0.36	0.16	0.28
	N	0.83	0.56	0.64	0.84	0.72
فراوانی ژنوتیپی مشاهده شده (مورد انتظار) Genotypic frequency ob. (ex.)	MM	0.16 (0.03)	0.02 (0.19)	0 (0.12)	0 (0.02)	0.05 (0.08)
	MN	0.02 (0.28)	0.84 (0.50)	0.72 (0.47)	0.32 (0.27)	0.47(0.41)
	NN	0.82 (0.69)	0.14 (0.31)	0.28 (0.41)	0.68 (0.71)	0.48 (0.51)
کای اسکور χ^2		45.56*	24.12*	15.31*	1.68^{ns}	5.74*
فراوانی هتروزیگوسیتی (هموزیگوسیتی) مشاهده شده Hetero. (Homo.) observed frequency		0.02 (0.98)	0.84 (0.16)	0.72 (0.28)	0.32 (0.68)	0.48 (0.52)
فراوانی هتروزیگوسیتی (هموزیگوسیتی) مورد انتظار Hetero. (Homo.) expected frequency		0.29 (0.71)	0.50 (0.50)	0.47 (0.53)	0.28 (0.72)	0.41 (0.59)
متوسط هتروزیگوسیتی Mean heterozygosity		0.37	0.37	0.37	0.37	0.37
شاخص اطلاعات شانون Shannon's Information index		0.45	0.68	0.65	0.43	0.59
شاخص تثبیت Fixation index		0.92	-0.70	-0.56	-0.19	-0.17

* Significant ($P < 0.05$)
Ns: Non significant ($P < 0.05$)

در نتایج به دست‌آمده از این تحقیق، در کل جمعیت‌ها، شاخص اطلاعات شانون در دو جایگاه ژنی B-L و B-G به ترتیب 0/37 و 0/59 و شاخص تثبیت به ترتیب 0/13- و 0/17- محاسبه شد. بیشترین مقدار شاخص هتروزیگوسیتی مشاهده شده برای جایگاه‌های ژنی B-L و B-G به ترتیب برابر با 0/25 و 0/48 برآورد شد. برآورد شاخص تثبیت منفی در مرغ‌های مورد مطالعه می‌تواند به دلیل شدت انتخاب بالا در جمعیت‌ها باشد. شاخص تثبیت همیشه در محدوده‌ی 1- تا 1 متغیر است و منفی بودن آن نشانی از کاهش هتروزیگوسیتی و افزایش هموزیگوسیتی یا افزایش هم‌خونی و همچنین انحراف از تعادل هاردی - واینبرگ در جمعیت‌ها باشد. شاخص اطلاعات شانون برآوردی از تنوع ژنتیکی در جمعیت‌ها است. در کل جمعیت‌های مورد مطالعه، جایگاه ژنی B-G دارای تنوع ژنتیکی نسبتاً بالایی بود.

نتیجه‌گیری کلی

چندشکلی‌های موجود در جایگاه‌های ژنی پل ارتباطی برای مطالعات روی پاسخ ایمنی ژنوتیپ‌های مشاهده شده جهت بهبود پاسخ ایمنی در مرغ‌های بومی است. طبق نتایج این تحقیق با توجه به وجود چندشکلی در دو جایگاه ژنی B-F و B-G، می‌توان از این جایگاه‌ها به عنوان نشانگر برای اصلاح نژاد ژنتیکی جهت افزایش مقاومت مرغ‌های بومی به بیماری‌ها استفاده کرد.

سپاسگزاری

این پژوهش با همکاری موسسه‌ی تحقیقات علوم دامی کشور، معاونت امور دام جهاد کشاورزی استان آذربایجان غربی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان شرقی و با مساعدت و همکاری آزمایشگاه ژنتیک دانشگاه آزاد اسلامی واحد مراغه انجام گرفت. از همکاری بی‌دریغ همه‌ی همکاران و عزیزان مراکز یادشده کمال تشکر و سپاسگزاری را داریم.

منابع

1- Bacon, L. D., H. D. Hunt, and H. H. Cheng. 2001. Genetic resistance to Mareks disease. Current Topics in Microbiology and Immunology, 255: 121-141.
2- Baghizadeh, A., M. Bahaaddini, M. R. Mohamadabadi, and N. Askari. 2009. Allelic variations in exon 2 of caprine MHC class II DRB3 gene in Raeini Cashmere goat. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science, 6(4): 454-459.
3- Boonyanuwat, K., S. Thummabutra, N. Sookmanee, V. Vatchavalkhu, and V. Siripholvat. 2006. Influences of major histocompatibility complex class I haplotypes on avian influenza virus disease traits in Thai indigenous chickens. Animal Science Journal, 77: 285-289.
4- Butter, C., K. Staines, A. Hateren, T. F. Davison, and J. Kaufman. 2013. The peptide motif of the single dominantly expressed class I molecule of the chicken MHC can explain the response to a molecular defined vaccine of infectious bursal disease virus (IBDV). Immunogenetics, 65: 609-618.
5- Davison, T. T. F., B. Kaspers, and K. A. Schat. 2008. Avian Immunology. 1st Ed. Elsevier Ltd, London, UK.
6- Dietert, R. R. 1987. The major histocompatibility complex as a communication gene complex. Poultry Science, 66: 774-775.
7- Esmailnejad, A., Gh. Nikbakht, N. Khazeni Oskoui, and F. Amini. 2015. Allelic segregation of major histocompatibility complex using LEI0258 microsatellite marker in indigenous and commercial chickens. Journal of Veterinary Research, 70(1): 101-107. (In Persian).
8- Hawken, R. J., C. W. Beattie, and L. B. Schook. 1998. Resolving the genetics of resistance to infectious diseases. Revue Scientifique Et Technique, 17(1): 17-25.
9- Hunt, H. D., S. Jadhao, and D. E. Swayne. 2010. Major histocompatibility complex and background genes in chickens influence susceptibility to high pathogenicity avian influenza virus. Avian Diseases, 54: 572-575.
10- Joiner, K. S., F. J. Hoerr, S. E. Van, and S. J. Ewald. 2005. The avian major histocompatibility Complex influences bacterial skeletal disease in broiler breeder chickens. Veterinary Pathology, 42: 275-281.
11- Jovanovic, S., M. savic, and D. zivkovic. 2009. Genetic variation in disease resistance among farm animals. Biotechnology in Animal Husbandry, 25(5 - 6): 339-347.
12- Lima-Rosa C. A. D. V., C. W. Canal, A. F. Streck, L. B. D. Freitas, A. Delgado-Canedo, S. L. Bonatto, and F. M. Salzano. 2004. B-F DNA sequence variability in Brazilian (blue-egg Caipira) chickens. Animal Genetics, 35: 278-284.
13- Lwelamira, J., G. C. Kifaro, P. S. Gwakisa, and P. L. M. Msoffe. 2008. Association of LEI0258 microsatellite alleles with antibody response against Newcastle disease virus vaccine and body weight in two Tanzania chicken ecotypes. African Journal of Biotechnology, 7: 714-720.
14- Malo, D. and E. Skamene. 1994. Genetic control of host resistance to infection. Trends in Genetics, 10: 365-371.
15- Miller, M. M., L. D. Bacon, K. Hala, H. D. Hunt, S. J. Ewald, J. Kaufman, R. Zoorob, and W. E. Briles. 2004. Nomenclature for the chicken major histocompatibility (B and Y) complex. Immunogenetics, 56: 261-279.
16- Miller, S. A., D. D. Dykes, and H. F. Polesky. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Research, 16(3): 12-15.
17- Moazeni, S., M. R. Mohammadabadi, M. Sadeghi, H. Shahrbabak, A. Koshkoieh, and F. Bordbar. 2016a. Association between UCP gene polymorphisms and growth, breeding value of growth and reproductive traits in Mazandaran indigenous chicken. Open Journal of Animal Sciences, 6(1): 1-8.
18- Moazeni, S. M., M. R. Mohammadabadi, M. Sadeghi, H. Moradi Shahrbabak, and A. K. Esmailizadeh. 2016b. Association of the melanocortin-3(MC3R) receptor gene with growth and reproductive traits in Mazandaran indigenous chicken. Journal of Livestock Science and Technologies, 4(2): 51-56.
19- Mohammadabadi, M. R., M. Nikbakhti, H. R. Mirzaee, A. Shandi, D. A. Saghi, M. N. Romanov, and I. G. Moiseyeva. 2010. Genetic variability in three native Iranian chicken populations of the Khorasan province based on microsatellite markers. Russian journal of genetics, 46(4): 505-509.
20- Muhaghegh Dolatabady, M., A. Moradalipour, F. Mansori, F. Fattahy, and Z. Sallehi. 2019. Investigation of $FecX^{I}$, $FecX^{H}$ and $FecX^{B}$ polymorphism in BMP15 gene in Lac Qashqai and Bahmaei sheep breeds at Kohkiloueh and Boyerahmad province. Iranian Journal of Animal Science Research, 11(2): 247-257. (In Persian).
21- Nikbakht Brujeni, Gh. and N. Barjesteh. 2009. A study of the genotypic variability at the MHC (B-F) in Arian broiler chickens by PCR-SSCP. Journal of Veterinary Research, 64(1): 63-67. (In Persian).
22- Oh, J. D., M. H. Park, H. S. Kong, H. K. Lee, G. J. Jeon, S. H. Yeon, B. D. Sang, C. H. Choi, and B. W. Cho. 2005. Characteristics and improving breed of economic traits of Korea native chicken. Korean Journal of Poultry Science, 32(1, 3): 29-34.

23- Ri - Fu, X., L. Kui, C. Guo-Hong, Q. Yang-Zong, Z. Yu-Bo, L. Li, F. Bin, and L. Bang. 2006. Genetic polymorphism within exon 2 of MHC B-G gene in nine Chinese indigenous chicken breeds. Acta Zoologica Sinica, 52(1): 160-169.
24- Roitt, I. M. 1993. Fundamental Immunology. Raven Press, New York, USA.
25- Ruzina, M. N., T. A. Shtyfurko, M. R. Mohammadabadi, O. V. Gendzhieva, T. Tsendsuren, G. E. Sulimova. 2010. Polymorphism of the BoLA-DRB3 gene in the Mongolian, Kalmyk, and Yakut cattle breeds. Russian journal of genetics, 46(4): 456-463.
26- Schou, T. W., R. Labouriau, A. Permin, J. P. Christensen, P. Sorensen, H. P. Cu, V. K. Nguyen, and H. R. Juul-Medsen. 2010. MHC haplotype and susceptibility to experimental infections (*Salmonella Enteritidis*, *Pasteurella multocida* or *Ascaridia galli*) in a commercial and an indigenous chicken breed. Veterinary Immunology Immunopathology, 135: 52-63.
27- Shahdadnejad, N., M. R. Mohammadabadi, and M. Shamsadini. 2016. Typing of clostridium perfringens isolated from broiler chickens using multiplex PCR. Genetics in the 3rd millennium, 14: 4368-4374.
28- Sivaraman, G. K. and S. Kumar. 2005. PCR-RFLP chicken in BL-βII region of MHC of divergent broiler lines based on Immunocompetence Index. Journal of Applied Animal Research, 28: 81-84.
29- Suzuki, K., T. Matsumoto, E. Kobayashi, H. Uenishi, I. Churkina, G. Plastow, H. Yamashita, N. Hamasima, and T. Mitsuhashi. 2010. Genotypes of chicken major histocompatibility complex B locus associated with regression of Rous sarcoma virus J-strain tumors. Poultry Science, 89: 651-657.
30- Tizard, I. R. 2009. Veterinary Immunology. 8th Ed. Saunders Elsevier Ltd, New York, USA.
31- Weigend, S., S. Matthes, J. Solkner, and S. J. Lamont. 2001. Resistance to Marek's disease virus in White Leghorn chickens: effects of avian leucosis virus infection genotype, reciprocal mating, and major histocompatibility complex. Poultry Science, 80: 1064-1072.
32- Xu, R. F., K. Li, G. H. Chen, B. Y. Z. Qiang, D. L. Mo, B. Fan, C. C. Li, M. Yu, M. J. Zhu, T. A. Xiong, and B. Liu. 2005. Investigation of PCR-RFLPs within Major Histocompatibility Complex B-G genes using two restriction enzymes in eight breeds of Chinese indigenous chickens. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 18(7): 942-948.
33- Xu, R. F., K. Li, G. Chen, H. Xu, B. Qiang, Ch. Li, and B. Liu. 2007. Characterization of genetic polymorphism of novel MHC *B-LB* Ⅱ alleles in Chinese Indigenous chickens. Journal of Genetics and Genomics, 34(2): 109-118.
34- Yeh, F. C., Y. Rongcal, and T. Boyle. 2000. POPGENE 1.32. A free program for the analysis of genetic variation among and within populations using co-dominant and dominant markers. Department of Renewable Resources, University of Alberta, Alberta, Canada.
35- Zandi, E., M. R. Mohammadabadi, M. Ezzatkhah, and A. K. Esmailizadeh. 2014. Typing of toxigenic isolates of clostridium perfringens by multiplex PCR in Ostrich. Iranian Journal of Applied Animal Science, 4: 509-514.
36- Zekarias, B., A. H. M. T. Huurne, W. J. M. Landman, J. M. J. Rebel, J. M. A. Pol, and E. Gruys. 2002. Immunological basis of differences in disease resistance in the chicken. Veterinary Research, 33: 109-125.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 11, No. 3, Fall 2019, p. 365-375

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد 11، شماره 3، پاییز 1398، ص. 375-365

Genotype Analysis of the Major Histocompatibility Complex Region in Iranian Indigenous Chicken

J. Pish Jang Aghajeri[1]*- G. Rahimi Mianji[2]- S. H. Hafezian[3]- M. Gholizadeh[4]- G. Elyasi[5]

Received: 09-04-2018
Accepted: 21-06-2018

Introduction Chicken major histocompatibility complex (MHC) region are important in immune responses, resistance to diseases, and relationships with evolution processes. The chicken major histocompatibility complex is composed of two gene regions: the B and Y (Rfp-Y) loci, both located on micro chromosome 16. The B locus includes three gene classes, I (B-F), II (B-L) and IV (B-G). The chicken major histocompatibility complex, consists of several clusters of highly polymorphic genes, some of which are associated with disease resistance. The class I and class II antigens resemble their mammalian counterparts in the encoded protein structure. The class IV region encodes the B blood group antigens, which are readily identified by serological blood-typing. The class III region appears to be divided in chickens, with some elements that are MHC-linked and others that map elsewhere. In addition the Rfp-Y system, which bears a strong similarity to the MHC, maps to the opposite side of the nucleolar organizer region on the same micro chromosome as the MHC. Each class of MHC genes is a potential candidate for a role in disease resistance. The MHC genes show associations with response to diseases as diverse as virally induced neoplasia, bacterial, parasitic and auto-immune diseases.

Materials and Methods In this study, allelic polymorphism in B-L, B-F and B-G loci involved in the immune system in four Iranian indigenous chickens were examined using PCR-RFLP technique. Two hundred birds including common, West Azerbaijan, Marandi, Mazandarani indigenous chicken breeds were selected. As much as 1-2 ml of blood was taken from each of the chicken. Blood samples were transferred to the anticoagulant (Ethylene diamine tetra acetic acid) tubes in the vicinity of the ice to the genetic and biotechnological laboratory of Islamic Azad University, Maragheh branch and until the onset of genomic DNA extraction and subsequent experiments were kept at -20°C. In the extraction of the genomic DNA of blood samples, the salting out method and for amplify of each locus, a pair of specific primers was used. For detection of mutation in the loci the Msp I enzyme was used. For genetic analysis of data derived from digestive enzymes in indigenous chickens, POPGENE software version 1.32 was used. This software is used to estimate the allele and genotypic frequencies, observed and expected heterozygosity, mean heterozygosity, Hardy-Weinberg equilibrium, Fixation index, Shannon information index, and other genetic parameters.

Results and Discussion According to this study results, in the 374-bp locus of B-L, after enzymatic digestion, only BB genotype and monomorphic was detected. In the 1048 bp locus of B-F, two genotypes CG and GG were identified and the C allele included 515, 410, 75 and 47 bp bands, and the G allele also included bands of 410, 302, 213, 75 and 47 bp and the $\chi2$ calculated in this locus was not significant for all populations ($P < 0.05$), and all populations were in Hardy-Weinberg equilibrium. Three Genotype MM, MN and NN genotypes were identified for the locus of B-G (401 bp), M allele included a 401 bp band and N allele included bands of 350 and 51 bp. The $\chi2$ calculated in this locus was not significant for the indigenous chicken population of Mazandarani ($P < 0.05$) and this population was in Hardy-Weinberg equilibrium. The Shannon information index was calculated to be 0.37 and 0.59 in markers loci of B-F and B-G, respectively, and the fixation index values were -0.13 and -0.17, respectively. The highest observed heterozygosity index for B-L and B-G loci was 0.24 and 0.57, respectively. Estimation of the negative fixation index values in the studied chickens populations

1- Assistant Professor of Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Maragheh branch, Islamic Azad University, Maragheh, Iran.
2, 3 and 4- Professor, Associate Professor and Assistant Professor of Animal Science Department, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.
5- Academic staff of Animal Science Department, East Azerbaijan Agriculture and Natural Resources Research Centre, Tabriz, Iran.
(*- Corresponding Author Email: parsa20012003@yahoo.com)

could be due to the high selection rate in the populations. The fixation index values is always variable in range -1 to 1, and its negativity indicates a decrease in heterozygosity and increase in homozygosity or increased inbreeding, as well as a deviation from the Hardy-Weinberg equilibrium in the populations. Shannon's information index is an estimate of genetic diversity in populations. In all of the populations studied, the B-G locus has a relatively high genetic diversity.

Conclusion Regarding the polymorphism in the two gene sites (B-F and B-G) studied and the heterozygosity reduction in the populations studied, can be prevented from occurrence of non-random crosses in populations and prevented the reduction of heterozygosity and thus reduced genetic diversity. Also, by studying the immune responses associated with these two gene sites, from these genes can be used as marker for genetic breeding in indigenous chickens for increase of resistance to diseases.

Key words: Indigenous chicken, MHC, PCR-RFLP, Polymorphism.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 11, No. 3, Fall 2019, p. 377-388

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد 11، شماره 3، پاییز 1398، ص. 388-377

انتخاب ژنومی با استفاده از شبکه‌های عصبی مصنوعی بیزی و روش‌های پارامتری مطالعه مقایسه‌ای

سعید شادپور[1]، مجتبی طهمورث پور[2*]، محمد مهدی شریعتی[3]

تاریخ دریافت: 1397/05/08
تاریخ پذیرش: 1397/10/15

چکیده

در پژوهش حاضر توانایی پیش‌بینی ارزش های اصلاحی ژنومی شبکه‌های عصبی بیزی و روش‌های پارامتری در چهار معماری ژنتیکی شبیه سازی شده و چهار صفت واقعی موش با یکدیگر مقایسه شد. تعداد QTLها در معماری های ژنتیکی اول و سوم 50 و در معماری های ژنتیکی دوم و چهارم 500 در نظر گرفته شد. مقدار وراثت‌پذیری در معماری‌های ژنتیکی اول و دوم 0/3 و در معماری‌های ژنتیکی سوم و چهارم 0/7 بود. بیشترین صحت پیش‌بینی ژنومی حاصل از شبکه‌های عصبی بیزی در چهار معماری ژنتیکی شبیه‌سازی‌شده برابر با 0/644، 0/654، 0/800 و 0/81 بود. این مقادیر در روش‌های پارامتری برابر با 0/717، 0/685، 0/903 و 0/836 بود. حداکثر توانایی پیش‌بینی حاصل از شبکه‌های عصبی بیزی در پیش‌بینی وزن شش هفتگی، شیب رشد، شاخص توده بدنی و طول بدن به ترتیب برابر با 0/474، 0/359، 0/154 و 0/214 بود. توانایی پیش‌بینی روش‌های پارامتری در پیش‌بینی ژنومی این صفات مشابه و به‌طور متوسط برابر با 0/477، 0/369، 0/170 و 0/221 بود. میانگین مربعات خطای پیش‌بینی شبکه‌های عصبی بیزی در معماری‌های ژنتیکی شبیه‌سازی‌شده اندکی کمتر از روش‌های پارامتری و در داده‌های واقعی مشابه روش‌های پارامتری بود. مدت‌زمان اجرای شبکه‌های عصبی بیزی با افزایش تعداد نرون در لایه مخفی به‌صورت صعودی افزایش یافت. نتایج بدست آمده نشان داد با وجود بهتر بودن صحت و توانایی پیش بینی روش های پارامتری، شبکه‌های عصبی بیزی می توانند ارزش‌های اصلاحی ژنومی را با دقت مناسبی پیش‌بینی کنند. همچنین توانایی پیش‌بینی ژنومی شبکه‌های عصبی به صفات هدف، گونه موردنظر و معماری شبکه عصبی بستگی دارد.

واژه‌های کلیدی: ارزیابی ژنومی، روش‌های پارامتری، شبکه‌های عصبی، مقایسه کارایی.

مقدمه

انتخاب ژنومی با استفاده از نشانگرهای با تراکم زیاد، بخصوص SNPهایی که کل ژنوم را در برمی‌گیرند و اغلب در عدم تعادل پیوستگی با QTLهای مجاور خود هستند، ارزش ژنتیکی کل را پیش‌بینی می‌کند (17 و 27). در انتخاب ژنومی روش‌های گوناگونی برای برآورد ارزش‌های اصلاحی ژنومی معرفی و بکار گرفته‌شده‌اند. این روش‌ها در پیش‌بینی، فرضیات متفاوتی را در نظر می‌گیرند. روش‌های ناپارامتری ازجمله شبکه‌های عصبی مصنوعی نسبت به روش‌های پارامتری فرضیات کمتری در پیش‌بینی دارند و می‌توانند روابط غیرخطی را در پیش‌بینی‌های ژنومی اعمال نمایند. بنابراین ازنظر تئوری نسبت به تغییرات معماری‌های ژنتیکی مختلف پایدارتر بوده و توانایی ارائه پیش‌بینی‌های بهتری دارند (10) .

از عوامل مؤثر بر صحت پیش‌بینی‌ها در انتخاب ژنومی می‌توان سطح LD بین نشانگرها و QTLها، تعداد و نوع دام‌های جمعیت مرجع، وراثت‌پذیری صفت موردمطالعه، تعداد جایگاه‌های مؤثر بر صفت و توزیع اثرات آنها، قابلیت اعتماد اطلاعات فنوتیپی، روابط ژنتیکی دو جمعیت مرجع و اعتبارسنجی و مدل آنالیز را نام برد که نوع و میزان اثرات هر یک از این عوامل در مطالعات مختلف بررسی‌شده است (1 و 6 و 16 و 19).

در روش‌های پارامتری به‌کاررفته در انتخاب ژنومی، در رابطه با توزیع اثرات نشانگرها فرضیات مختلفی در نظر گرفته می‌شود. نتایج مطالعات پیشین نشان داده است که اعمال توزیع پیشین اثرات نشانگرها که با شکل توزیع اثرات واقعی نشانگرها همخوانی داشته باشد، می‌تواند صحت پیش‌بینی را تحت تأثیر قرار دهد چراکه پسین

1، 2 و 3- فارغ التحصیل دکتری، استاد و استادیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد
(* - نویسنده مسئول: tahmoores@um.ac.ir)
Doi:10.22067/ijasr.v11i3.74465

استنباط شده باید با صحت بالا اثرات واقعی نشانگرها در صفت موردنظر را تقریب بزنند (2 و 16 و 30). درحالی‌که توزیع اثرات حقیقی نشانگرها ناشناخته است، انتخاب توزیع پیشینی که برای تقلید توزیع اثرات واقعی نشانگرها به‌اندازه کافی منعطف باشد، یک موضوع کلیدی در اجرای روش‌های پارامتری در انتخاب ژنومی باقی می‌ماند (30 و 41). همچنین برخی از فرضیات مدل‌های پارامتری از قبیل نرمال بودن، خطی بودن و استقلال متغیرهای توضیحی اغلب در پیش‌بینی ژنومی برقرار نیستند (15).

در سال‌های اخیر، برای پرداختن به نقاط ضعف روش‌های پارامتری روش‌های نیمه پارامتری ازجمله رگرسیون فضاهای هیلبرت با هسته بازآفرین[1] و برآوردگر ناداریا- واتسون[2] (15) و روش‌های ناپارامتری ازجمله شبکه‌های عصبی مصنوعی[3] (14 و 18)، Boosting و جنگل تصادفی[4] (32) در انتخاب ژنومی معرفی‌شده‌اند. روش‌های ناپارامتری در رابطه با اثرات نشانگرها فرضیه‌ای را در نظر نمی‌گیرند، لذا ازنظر تئوری در مقابل تغییرات معماری ژنتیکی صفت پایدار بوده و به نظر می‌رسد می‌توانند ارزش اصلاحی ژنومی را نسبت به روش‌های پارامتری، با صحت بالاتری پیش‌بینی کنند.

باوجودآنکه مطالعات انتخاب ژنومی در حال حاضر دانش باارزشی در رابطه با تنوعات ژنی مؤثر بر صفات کمی را فراهم آورده‌اند، اما این مطالعات تنها بخشی از وراثت‌پذیری صفات پیچیده را توضیح می‌دهند (11). مسئله اساسی در توجیه وراثت‌پذیری گمشده می‌تواند عدم مطابقت معماری ژنتیکی صفات پیچیده با تکنیک‌های آماری به کار گرفته‌شده باشد (9 و 41). وجود اثرات غیر افزایشی و اثرات غیرخطی از درجات بالاتر می‌تواند یک روش تبیینی مهم در توجیه وراثت‌پذیری گمشده باشد. سازوکار ژنتیکی صفات پیچیده، ممکن است دربرگیرنده اثرات متقابل بین ژن‌ها، بین ژن‌ها و شرایط محیطی یا اثرات اپیستازی که به‌وسیله مدل‌های افزایشی به‌طور کامل اخذ نمی‌شوند، باشد (9). از این نظر تمایل فزاینده‌ای در استفاده از روش‌های نیمه پارامتری، ناپارامتری و یادگیری ماشین در پیش‌بینی ژنومی صفات کمی برای تخمین اثرات غیر افزایشی و همچنین اثرات متقابل ژنوتیپ و محیط وجود دارد (9 و 13 و 15).

هدف از پژوهش حاضر، بررسی کارایی شبکه‌های عصبی مصنوعی با الگوریتم آموزش بیزی در پیش‌بینی ژنومی و مقایسه نتایج به‌دست‌آمده با روش‌های پارامتری بود.

مواد و روش‌ها

در پژوهش حاضر، توانایی شبکه‌های عصبی مصنوعی با الگوریتم آموزش بیزی در پیش‌بینی ژنومی چهار معماری ژنتیکی شبیه‌سازی‌شده با اثرات افزایشی و 4 صفت واقعی موش شامل وزن شش هفتگی، شیب رشد، شاخص توده بدنی و طول بدن بررسی و نتایج به‌دست‌آمده با نتایج حاصل از روش‌های پارامتری GBLUP ، Bayes RR، Bayes A، Bayes B، Bayes C و Bayes L مقایسه شد.

در داده‌های شبیه‌سازی‌شده با تغییر مقدار وراثت‌پذیری (0/3 و 0/7) و تعداد QTLها (50 و 500) 4 معماری ژنتیکی مختلف شبیه‌سازی شد. مشخصات معماری‌های ژنتیکی شبیه‌سازی‌شده در جدول 1 نشان داده‌شده است.

در تمام این معماری‌های ژنتیکی توزیع اثرات SNPها، نرمال در نظر گرفته شد. برای شبیه‌سازی معماری‌های ژنتیکی با اثرات افزایشی از داده‌های ژنومی موش مارتینی و همکاران (26) استفاده شد. ابتدا با استفاده از نمونه‌برداری تصادفی 1000 نشانگر SNP از مجموعه نشانگرهای SNP تعیین ژنوتیپ شده در ژنوم موش جدا و سپس از بین این نشانگرهای نمونه‌برداری شده، به تعداد QTLهای در نظر گرفته‌شده در هر معماری ژنتیکی، نشانگر SNP با نمونه‌برداری مجدد انتخاب شدند. در ادامه به‌منظور شبیه‌سازی اثرات آللی QTLها، به‌اندازه 2 برابر تعداد QTLها در هر معماری ژنتیکی، اثرات آللی QTLها از توزیع نرمال با میانگین صفر و واریانس 0/01 نمونه‌برداری شدند. با در اختیار داشتن این اثرات، ارزش‌های اصلاحی واقعی اولیه حیوانات، متناظر با نوع و اثر آللی QTLهای مربوطه محاسبه شد. برای هر حیوان همچنین یک اثر خطای اولیه از توزیع نرمال با میانگین صفر و واریانس 0/01 نمونه‌برداری شد. در ادامه بردار ارزش‌های اصلاحی واقعی اولیه و اثرات خطای اولیه به ترتیب استاندارد و با توجه به مقدار توارث پذیری در نظر گرفته‌شده در هر معماری ژنتیکی، در انحراف معیار ژنتیکی افزایشی و اثرات خطا مناسب ضرب شدند. در پایان از جمع بردار ارزش‌های اصلاحی واقعی و اثرات خطا، بردار فنوتیپ حیوانات به دست آمد. پیش از انجام آنالیزها، 1000 نشانگر SNP نمونه‌برداری شده اولیه از مجموعه داده‌های ژنوتیپی حیوانات حذف شدند. محاسبات لازم برای شبیه‌سازی معماری‌های ژنتیکی مختلف با استفاده از کدهای نوشته‌شده در نرم‌افزار R انجام پذیرفت.

در بخش داده‌های واقعی از داده‌های ژنوم موش مارتینی و همکاران (26) شامل 1298 حیوان تعیین ژنوتیپ شده با 9265 نشانگر SNP استفاده شد. مارتینی و همکاران داده‌های یادشده را به شرح زیر ویرایش کردند.

1-Reproducing Kernel Hilbert Spaces Regression (RKHS)
2- Nadaraya-Watson Estimator (NWE)
3- Artificial Neural Networks (ANNs)
4- Random Forest (RF)

جدول 1- تعداد QTL ها و مقدار وراثت‌پذیری در معماری‌های ژنتیکی شبیه‌سازی‌شده

Table 1- The values of heritability and QTL numbers in simulated genetic architectures

متغیر Variable	GA1 معماری ژنتیکی اول	GA2 معماری ژنتیکی دوم	GA3 معماری ژنتیکی سوم	GA4 معماری ژنتیکی چهارم
Number of QTLs تعداد QTL ها	50	500	50	500
Heritability وراثت‌پذیری	0.3	0.3	0.7	0.7

GA: Genetic Architecture

نقشه فیزیکی نشانگرهای SNP، با استفاده از بسته biomaRt نرم‌افزار R به آخرین نسخه ژنوم موش[1] بروز رسانی شد. در ادامه، تنها تنها از نشانگرهای SNP نقشه یابی شده بر روی GRCm38.p4 برای آنالیزها استفاده شد. در این داده‌های ژنوتیپی نرخ نشانگرهای گمشده برابر با 0/33 بود که با انتساب ژنوتیپی[2] جایگذاری شدند. پیش از آنالیز داده‌ها، نشانگرهای SNP با فراوانی آلل جزئی کمتر از 0/01 حذف شدند. کلیه مراحل انتساب ژنوتیپی، کدگذاری مجدد و تعیین کیفیت ژنوتیپ‌ها به‌طور همزمان و با استفاده از بسته Synbreed نرم‌افزار R انجام شد. برای پیش‌بینی ژنومی از رکوردهای فنوتیپی تصحیح‌شده برای اثرات جنس، فصل و ماه استفاده شد.

برای آموزش شبکه‌های عصبی بیزی از بسته brnn نرم‌افزار R استفاده شد. تعداد دوره ها[3] در شبکه‌های عصبی بیزی برابر با 30 در نظر گرفته شد و تعداد نرون‌ها در لایه مخفی از 1 تا 5 تغییر داده شد. تابع فعال‌ساز تانژانت هایپربولیک و تابع هدف میانگین مربعات خطای پیش‌بینی تصحیح‌شده بود. فرم ریاضی تابع تانژانت هایپربولیک در زیر نمایش داده‌شده است (10).

$$\tanh x = \frac{\sinh x}{\cosh x} = \frac{e^{x} - e^{-x}}{e^{x} + e^{-x}} = \frac{e^{2x} - 1}{e^{x} + 1} = \frac{1 - e^{-2x}}{1 + e^{-2x}} \qquad (1)$$

Hyperbolic tangent:

هر شبکه عصبی بیزی شامل یک‌لایه ورودی، یک‌لایه مخفی و یک‌لایه خروجی بود. در لایه ورودی به ازای هر متغیر ورودی به شبکه عصبی یک وزن تصادفی اختصاص می‌یابد. وظیفه لایه ورودی، انتقال متغیرهای ورودی و وزن‌های اختصاص‌یافته آنها به نرون‌های لایه میانی است. در لایه میانی تعدادی نرون وجود دارد. هر نرون شبکه عصبی شامل سه بخش آکسون‌های ورودی، بدنه نرون و آکسون‌های خروجی است. وظیفه آکسون‌های ورودی، دریافت متغیرهای ورودی و وزن‌های مربوطه از لایه قبل و انتقال آنها به بدنه نرون است. در بدنه هر نرون، مجموع حاصل‌ضرب متغیرهای ورودی و وزن‌های متناظرشان با یک مقدار عرض از مبدأ (بایاس) جمع شده پس از عبور از تابع فعال‌ساز به خروجی نرون مربوطه تبدیل می‌شوند. به خروجی نرون‌های لایه میانی نیز یک وزن تصادفی اختصاص می‌یابد سپس این مقادیر به لایه خروجی انتقال می‌یابند. لایه خروجی متشکل از یک نرون با تابع فعال‌ساز خطی بود. تخمین تابع در شبکه‌های عصبی در طی فرآیند آموزش شبکه که شامل اصلاح وزن‌ها و بایاس‌های شبکه عصبی است، امکان‌پذیر می‌گردد. آموزش هر شبکه عصبی چندلایه در دو مرحله انتشار روبه‌جلو و پس انتشار رو به عقب از طریق الگوریتم آموزش شبکه انجام می‌شود. در مرحله انتشار روبه‌جلو، ورودی‌ها و وزن‌های اختصاص‌یافته به هر یک از آنها، از یک لایه به لایه بعد از لایه ورودی به سمت لایه خروجی منتشر می‌شود. پس‌ازاین مرحله، خروجی شبکه با خروجی ایده آل مقایسه شده و میزان خطای شبکه محاسبه می‌گردد. در مرحله انتشار رو به عقب، مقدار خطای شبکه رو به عقب (از سمت خروجی شبکه عصبی به سمت ورودی) انتشار می‌یابد. پس از انتشار رو به عقب، الگوریتم آموزش شبکه عصبی بااطلاع از گرادیان تابع هزینه نسبت به وزن‌ها و بایاس‌های شبکه عصبی، این مقادیر را به‌روزرسانی می‌نماید. این فرآیند تا پایان شرط توقف آموزش شبکه عصبی که یکی از شروط رسیدن به مقدار آستانه خطا قابل‌قبول، حداکثر تکرار (تعداد مراحل بروز رسانی وزن‌ها و بایاس‌ها) و یا حداکثر مدت‌زمان اجرا است، ادامه می‌یابد (25).

در شبکه های عصبی بیزی تابع هدف تصحیح شده به شکل زیر است.

$$F - \beta E_D(D|w,M) + \alpha\, E_w(w|M) \qquad (2)$$

در رابطه بالا $E_D(D|w,M)$ مجموع مربعات باقی مانده و $E_w(w|M)$ مجموع مربعات وزن های شبکه است. M و w به ترتیب معماری و وزن های شبکه عصبی و α و β پارامترهای تنظیم شبکه هستند که تعادل نیکویی برازش و میزان پیچیدگی مدل برازش یافته را کنترل می نمایند. در چهارچوب بیز تجربی، وزن های بهینه مقادیری هستند که چگالی پسین شرطی $P = (w|D, \alpha, \beta, M)$ را بیشینه نمایند که معادل با کمینه سازی تابع هدف F خواهد بود. کمینه سازی F برابر با یافتن بیشینه

1- Mus musculus, assembly GRCm38.p4
2- Imputation
3- Epoch

برآوردهای پسین w (w^{MP}) است که E_D را با استفاده از الگوریتم انتشار به عقب کمینه می‌نماید (26). تئوری بیز چگالی پسین α و β را بصورت $P(\alpha,\beta|D,M)=\frac{P(D|\alpha,\beta,M)P(\alpha,\beta|M)}{P(D|M)}$ نتیجه می‌دهد.

اگر چگالی پیشین $P(\alpha,\beta|M)$ یکنواخت در نظر گرفته شود، بیشینه‌سازی $P(\alpha,\beta|D,M)$ نسبت به α و β معادل بیشینه‌سازی $P(D|\alpha,\beta,M)$ خواهد بود. بهینه‌سازی پارامترهای تنظیم، نیاز به ماتریس هیسین تابع F تخمین زده شده در نقطه W^{MP} دارد (40). اما همانطور که توسط مک کی (25) پیشنهاد شده است اگر از الگوریتم آموزش لونبرگ- مارکوارت برای یافتن کمینه F استفاده شده باشد، محاسبه مستقیم ماتریس هیسین ضروری نیست و می‌توان از تخمین گوس- نیوتن ماتریس هیسین استفاده نمود (22 و 34 و 37). به طور خلاصه ماتریس هیسن بصورت $H=JJ'$ تقریب زده می‌شود. J ماتریس ژاکوبین است که شامل مشتقات اول خطاهای شبکه نسبت به پارامترهای شبکه (وزن‌ها و بایاس‌ها) می باشد. پارامترهای شبکه به صورت زیر بروزرسانی می شوند.

$$w_{k+1}=w_k-(JJ'+\mu I)\times J'e \qquad (۳)$$

در رابطه بالا μ فاکتور تعدیل لونبرگ است که در هر تکرار تنظیم و فرآیند بهینه‌سازی را هدایت می‌نماید.

در شبکه‌های عصبی بیزی مقادیر بهینه پارامترهای تنظیم α و β به‌صورت زیر محاسبه می‌شوند.

$$\alpha^{MP}=\frac{\gamma}{2E_W(w^{MP})}\ ,\quad \beta^{MP}=\frac{n-\gamma}{2E_D(w^{MP})} \qquad (4)$$

γ تعداد پارامترهای مؤثر در شبکه عصبی است که در رابطه زیر صدق می‌نماید.

$$0\le\gamma=m-2\alpha^{MP}tr(H^{MP})^{-1}\le m \qquad (5)$$

در رابطه بالا H^{MP} بیشینه برآورد پسین و m تعداد کل پارامترهای شبکه عصبی است.

از ماتریس روابط خویشاوندی ژنومی حیوانات به‌عنوان ورودی شبکه‌های عصبی استفاده شد که بر اساس رابطه زیر به دست آمد.

$$G=\frac{ZZ'}{P} \qquad (6)$$

در رابطه بالا Z ماتریس استانداردشده نشانگرهای SNP و P برابر با تعداد کل نشانگرهای SNP است.

هر یک از عناصر ماتریس Z بر اساس رابطه زیر محاسبه شد.

$$Z_{ij}=\frac{X_{ij}-\mu_j}{\sigma_{X_j}} \qquad (7)$$

در رابطه بالا X_{ij} نشان‌دهنده ژنوتیپ حیوان i ام در نشانگر SNP j ام و $\mu_{X_{.j}}$ و $\sigma_{X_{.j}}$ به ترتیب نشان‌دهنده میانگین و انحراف معیار نشانگر SNP j ام است.

برای اجرای روش‌های پارامتری، بسته آماری BGLR به کار گرفته شد (8). در تمام این روش‌ها تعداد تکرارها برابر با 12000 در نظر گرفته شد. از این تعداد تکرار، 2000 تکرار نخست به‌عنوان دوره گرم شدگی حذف شدند. برای اطمینان از همگرایی نمونه‌های گیبس از رسم پلات و خودهمبستگی بین نمونه‌ها استفاده شد. جزئیات روش‌های پارامتری مورداستفاده در (35) ارائه‌شده است. جهت مقایسه کارایی شبکه‌های عصبی بیزی و روش‌های پارامتری در پیش‌بینی ژنومی معماری‌های ژنتیکی شبیه‌سازی‌شده و صفات واقعی مورد بررسی از معیارهای صحت پیش‌بینی یا توانایی پیش‌بینی، میانگین مربعات خطای پیش‌بینی و مدت‌زمان اجرا برحسب ثانیه استفاده شد. صحت پیش‌بینی درداده های شبیه‌سازی‌شده برابر با ضریب همبستگی پیرسون ارزش‌های ژنومی پیش‌بینی‌شده و مقادیر ارزش‌های اصلاحی واقعی بود. درداده های واقعی ضریب همبستگی بین ارزش‌های ژنومی پیش‌بینی‌شده و مقادیر فنوتیپی مشاهده‌شده توانایی پیش‌بینی نامیده شد. در پیش‌بینی ژنومی هر یک از معماری‌های ژنتیکی شبیه‌سازی‌شده و صفات واقعی در پژوهش حاضر ابتدا داده‌های موجود با استفاده از نمونه‌برداری تصادفی به 10 مجموعه آموزش و آزمون به ترتیب متشکل از 1000 و 296 داده تقسیم شدند و ارزیابی مدل‌های بررسی‌شده بر اساس عملکردشان در پیش‌بینی این 10 مجموعه داده (تکرار) انجام پذیرفت.

نتایج و بحث

صحت پیش‌بینی شبکه‌های عصبی بیزی و روش‌های پارامتری در معماری‌های ژنتیکی شبیه‌سازی‌شده با اثرات افزایشی در جدول 2 نشان داده‌شده است. بیشترین صحت پیش‌بینی حاصل از شبکه‌های عصبی بیزی در 4 معماری ژنتیکی شبیه‌سازی‌شده به ترتیب برابر با 0/644 (4 نرون در لایه مخفی)، 0/654 (4 نرون در لایه مخفی)، 0/800 (1 نرون در لایه مخفی) و 0/81 (۱ نرون در لایه مخفی) بود. این مقادیر در روش‌های پارامتری به ترتیب برابر با 0/717 (Bayes B)، 0/685 (Bayes A)، 0/903 (Bayes B) و 0/836 (Bayes B) بود. این نتایج، نشان‌دهنده برتری روش‌های پارامتری نسبت به شبکه‌های عصبی بیزی ازنظر صحت پیش‌بینی در معماری‌های ژنتیکی با اثرات افزایشی بررسی‌شده است. این یافته با نتایج محمدی و همکاران (29) که صحت پیش‌بینی در صفات تولید شیر،

تولید چربی، تولید پروتئین و تعداد سلول‌های سوماتیک در جمعیت گاوهای هلشتاین تعیین ژنوتیپ شده متشکل از 345 گاو نر را بررسی کردند، همخوانی دارد. هووارد و همکاران (21) در یک مطالعه مقایسه‌ای صحت پیش‌بینی 4 روش ناپارامتری شبکه‌های عصبی مصنوعی، رگرسیون بردار پشتیبان، رگرسیون فضاهای هیلبرت با هسته بازآفرین و برآوردگر نادارایا- واتسون را با روش‌های پارامتری مقایسه کردند. نتایج مطالعه آنها نیز نشان‌دهنده برتری روش‌های پارامتری نسبت به روش‌های ناپارامتری در معماری‌های ژنتیکی افزایشی بود. در معماری‌های ژنتیکی افزایشی تأثیر آللی تنوعات ژنی مؤثر بر صفات مستقل از یکدیگرند. در مدل‌های پارامتری نیز این اثرات مستقل فرض می‌شوند بنابراین، می‌توان انتظار داشت در معماری‌های ژنتیکی افزایشی، روش‌های پارامتری نسبت به روش‌های ناپارامتری پیش‌بینی‌های بهتری ارائه دهند. نتایج به‌دست‌آمده، همچنین نشان‌دهنده برتری روش‌های پارامتری جریمه‌ای همراه با انتخاب متغییر به‌ویژه Bayes B در معماری‌های ژنتیکی با تعداد کم QTL (معماری اول و سوم) نسبت به روش‌های صرفاً جریمه‌ای مانند GBLUP ازنظر صحت پیش‌بینی است. این یافته‌ها در مطالعات پیشین نیز گزارش‌شده‌اند. (3 و 7 و 28). نتایج مطالعات پیشین نشان داده است که در پیش‌بینی برخی از صفات واقعی که تحت تأثیر ژن‌های بزرگ اثر هستند، روش‌های جریمه‌ای همراه با انتخاب متغییر نسبت به روش‌های صرفاً جریمه‌ای عملکرد بهتری دارند ازجمله این صفات می‌توان به چربی شیر اشاره کرد که تحت تأثیر ژن بزرگ اثر DGAT1 است (23). با مقایسه صحت پیش‌بینی حاصل از روش‌های مختلف در معماری‌های ژنتیکی (اول و سوم) و (دوم و چهارم) می‌توان دریافت که با افزایش مقدار وراثت‌پذیری در معماری‌های ژنتیکی با تعداد QTL برابر، صحت پیش‌بینی تمامی روش‌ها افزایش‌یافته است. این نتیجه در تطابق با یافته‌های مطالعات پیشین است (12 و 24 و 31). وراثت‌پذیری یک صفت درواقع نشان‌دهنده نسبت اندازه سیگنال ارزش‌های افزایشی به‌اندازه سیگنال خطا است. به‌عبارت‌دیگر، بیشتر بودن وراثت‌پذیری به معنای کمتر بودن اندازه سیگنال خطای داده‌های ورودی به مدل است که منجر به بهبود صحت پیش‌بینی روش‌های مختلف می‌گردد.

توانایی پیش‌بینی شبکه‌های عصبی بیزی و روش‌های پارامتری در پیش‌بینی داده‌های واقعی در جدول 3 ارائه‌شده است. حداکثر توانایی پیش‌بینی حاصل از شبکه‌های عصبی بیزی در پیش‌بینی وزن شش هفتگی، شیب رشد، شاخص توده بدنی و طول بدن به ترتیب برابر با 0/474 (1 نرون در لایه مخفی)، 0/359 (4 نرون در لایه مخفی)، 0/154 (1 نرون در لایه مخفی)، 0/214 (4 نرون در لایه مخفی) بود. توانایی پیش‌بینی روش‌های پارامتری در پیش‌بینی ژنومی این صفات مشابه بود. این یافته با نتایج پژوهش‌های پیشین که گزارش کردند در پیش‌بینی ژنومی بیشتر صفات واقعی روش‌های جریمه‌ای مشابه و یا حتی بهتر از روش‌های جریمه‌ای توأم با انتخاب متغییر عمل می‌نمایید، همخوانی دارد. دلیل این امر معماری پلی ژنیک این صفات و توزیع نرمال تأثیرات ژنی است (4 و 23 و 39). توانایی پیش‌بینی روش‌های پارامتری و شبکه‌های عصبی بیزی در پیش‌بینی این صفات نیز مشابه بود به‌طوری‌که تفاوت بهترین توانایی پیش‌بینی حاصل از شبکه‌های عصبی بیزی و روش‌های پارامتری در سه صفت وزن شش هفتگی، شیب رشد و طول بدن کمتر از 1 ٪ بود. این مقدار برای صفت شاخص توده بدنی اندکی بیشتر و برابر با 1/8% بود. در رابطه با توانایی پیش‌بینی ژنومی شبکه‌های عصبی، مطالعات مختلفی انجام‌شده است.

جدول 2- صحت پیش‌بینی شبکه‌های عصبی بیزی و روش‌های معیار در معماری‌های ژنتیکی شبیه‌سازی‌شده

Table 2- The prediction accuracy of Bayesian Regularized Neural Networks and benchmark methods on the simulated data

روش‌های مورد مطالعه Study methods		معماری ژنتیکی اول A1	معماری ژنتیکی دوم A2	معماری ژنتیکی سوم A3	معماری ژنتیکی چهارم A4
شبکه عصبی بیزی BRNN	NN=1	0.641 (0.0155)	0.638 (0.0240)	0.800 (0.0117)	0.810 (0.0111)
	NN=2	0.641 (0.0224)	0.643 (0.0251)	0.784 (0.0168)	0.788 (0.0204)
	NN=3	0.64 (0.0233)	0.647 (0.0243)	0.740 (0.0269)	0.744 (0.0169)
	NN=4	0.644 (0.0208)	0.654 (0.0255)	0.761 (0.0206)	0.764 (0.0237)
	NN=5	0.633 (0.0252)	0.653 (0.0241)	0.740 (0.0210)	0.736 (0.0228)
روش‌های پارامتری PM	GBLUP	0.683 (0.0200)	0.684 (0.0213)	0.820 (0.0113)	0.830 (0.0103)
	Bayes RR	0.682 (0.0198)	0.683 (0.0211)	0.819 (0.0115)	0.830 (0.0102)
	Bayes A	0.694 (0.0199)	0.685 (0.0210)	0.859 (0.0096)	0.833 (0.0102)
	Bayes B	0.717 (0.0205)	0.684 (0.0213)	0.903 (0.0090)	0.836 (0.0100)
	Bayes C	0.688 (0.0190)	0.683 (0.0213)	0.888 (0.0106)	0.831 (0.0105)
	Bayes L	0.687 (0.0201)	0.684 (0.0207)	0.834 (0.0102)	0.832 (0.0103)

BRNN: Bayesian Regularized Neural Networks
PM: Parametric Methods
NN: Number of neurons in hidden layer

جدول 3- توانایی پیش‌بینی شبکه‌های عصبی بیزی و روش‌های معیار در داده‌های موش

Table 4- The predictive ability of Bayesian Regularized Neural Networks and benchmark methods in genomic enabled prediction on the mouse data

روش‌های مورد مطالعه Study methods		وزن شش هفتگی W6W	شیب رشد Growth Slope	شاخص توده بدنی BMI	طول بدن Body Length
شبکه عصبی بیزی BRNN	NN=1	0.474 (0.0171)	0.339 (0.0251)	0.154 (0.0154)	0.211 (0.0169)
	NN=2	0.468 (0.0204)	0.356 (0.0252)	0.149 (0.0130)	0.201 (0.0228)
	NN=3	0.438 (0.0179)	0.358 (0.0212)	0.145 (0.0140)	0.207 (0.0228)
	NN=4	0.464 (0.0184)	0.359 (0.0209)	0.144 (0.0134)	0.214 (0.0223)
	NN=5	0.462 (0.0198)	0.355 (0.0204)	0.144 (0.0147)	0.206 (0.0228)
روش‌های پارامتری PM	GBLUP	0.477 (0.0190)	0.368 (0.0224)	0.170 (0.0137)	0.222 (0.0167)
	Bayes RR	0.477 (0.0191)	0.368 (0.0221)	0.170 (0.0141)	0.220 (0.0159)
	Bayes A	0.477 (0.0189)	0.369 (0.0222)	0.172 (0.0142)	0.221 (0.0165)
	Bayes B	0.476 (0.0183)	0.370 (0.0219)	0.164 (0.0142)	0.222 (0.0163)
	Bayes C	0.477 (0.0188)	0.368 (0.0220)	0.170 (0.0136)	0.220 (0.0163)
	Bayes L	0.476 (0.0187)	0.368 (0.0216)	0.171 (0.0130)	0.218 (0.0175)

BRNN: Bayesian Regularized Neural Networks
PM: Parametric Methods
NN: Number of neurons in hidden layer

هس لات و همکاران (20) توانایی پیش‌بینی شبکه‌های عصبی مصنوعی و روش‌های پارامتری را در سه مجموعه داده جو، ذرت و گندم بررسی کردند. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد در بیشتر ارزیابی‌های انجام‌شده در داده‌های گندم، شبکه‌های عصبی مصنوعی نسبت به روش‌های پارامتری توانایی پیش‌بینی بهتری داشتند اما در ارزیابی‌های انجام‌شده بر روی داده‌های جو و ذرت برتری با روش‌های پارامتری بود.

بهتر بودن توانایی پیش‌بینی ژنومی شبکه‌های عصبی مصنوعی نسبت به روش‌های پارامتری در بیشتر ارزیابی‌های ژنومی انجام‌شده بر روی داده‌های گندم توسط پرز - رودریگز و همکاران (36) و کروسا و همکاران (5) نیز گزارش‌شده است. تاسل و همکاران (38) توانایی پیش‌بینی شبکه‌های عصبی بیزی و روش‌های پارامتری در پیش‌بینی تعداد نتاج در هر زایش در دو لاین خالص و یک لاین آمیخته خوک را بررسی و گزارش کردند توانایی پیش‌بینی شبکه‌های عصبی بیزی در پیش‌بینی تعداد نتاج در هر زایش در لاین‌های خالص کمتر و یا مشابه روش‌های پارامتری بود اما در لاین آمیخته شبکه‌های عصبی بیزی توانایی پیش‌بینی بهتری داشتند. اوکات و همکاران (33) توانایی شبکه‌های عصبی بیزی و روش Bayes cπc (Bayes cπ با π برابر با صفر) در پیش‌بینی تفاوت نتاج مورد انتظار نمره ماربلینگ گاوهای آنگوس در دو مجموعه داده 3k و 700 نشانگر SNP انتخاب‌شده را مقایسه کردند. نتایج نشان داد، در داده‌های 3k عملکرد شبکه‌های عصبی بیزی تنها اندکی بهتر از Bayes cπc بود و برعکس در داده‌های 700 نشانگر SNP انتخاب‌شده عملکرد Bayes cπc اندکی بهتر از شبکه‌های عصبی بیزی بود. آنها دلیل بهتر نبودن توانایی شبکه‌های عصبی نسبت به روش Bayes cπc را رابطه خطی تفاوت نتاج مورد انتظار نمره ماربلینگ و اثرات نشانگرهای SNP گزارش کردند. اریت و همکاران (10) با بررسی توانایی شبکه‌های عصبی پرسپترون در پیش‌بینی ژنومی صفات تولید شیر، چربی و پروتئین گزارش کردند که در صورت استفاده از ماتریس روابط خویشاوندی ژنومی و یا نمرات اجزای اصلی به‌عنوان ورودی شبکه‌های عصبی توانایی پیش‌بینی شبکه‌های عصبی با تعداد نرون متفاوت، تفاوت اندکی داشتند. بااین‌وجود، در شبکه‌های عصبی غیرخطی افزایش تعداد نرون در لایه مخفی منجر به اندکی بهبود در توانایی پیش‌بینی گردید. در بررسی توانایی شبکه‌های عصبی بیزی در پیش‌بینی ژنومی صفات تولید شیر، تولید چربی و تولید پروتئین گاوهای جرسی و صفت عملکرد دانه گندم در مطالعه جیانولا و همکاران (14)، شبکه‌های عصبی غیرخطی با بیش از یک نرون در لایه مخفی نسبت به شبکه‌های عصبی خطی توانایی پیش‌بینی بهتری داشتند. این ویژگی در پیش‌بینی صفت عملکرد دانه گندم بارزتر بود. نتایج پژوهش حاضر و مطالعات ذکرشده پیشین، نشان می‌دهد توانایی پیش‌بینی شبکه‌های عصبی در مقایسه با روش‌های پارامتری به صفات هدف و گونه موردنظر بستگی داشته و به نظر می‌رسد شبکه‌های عصبی نسبت به روش‌های پارامتری در پیش‌بینی ژنومی صفات در نژادهای آمیخته، عملکرد بهتری دارند.

میانگین مربعات خطای پیش‌بینی شبکه‌های عصبی بیزی و روش‌های پارامتری در معماری‌های ژنتیکی شبیه‌سازی‌شده با اثرات افزایشی در جدول 4 ارائه‌شده است. حداقل میانگین مربعات خطای پیش‌بینی حاصل از شبکه‌های عصبی بیزی در 4 معماری ژنتیکی شبیه‌سازی‌شده به ترتیب برابر با 0/185 (5 نرون در لایه مخفی)، 0/167 (4 و 5 نرون در لایه مخفی)، 0/287 (2 نرون در لایه مخفی) و 0/289 (1 نرون در لایه مخفی) بود. حداقل مربعات خطای پیش‌بینی حاصل از روش‌های پارامتری در معماری‌های ژنتیکی

شبیه‌سازی‌شده بـه ترتیـب 0/178 (Bayes B)، 0/187 (GBLUP, Bayes RR, Bayes A, Bayes B)، 0/437 (GBLUP, Bayes RR) و 0/313 (Bayes B) بود. این نتایج نشان‌دهنده برتری نسـبی شبکه‌های عصبی بیزی نسبت به روش‌های پارامتری ازنظر میـانگین مربعات خطای پیش‌بینی به‌عنوان شاخصی از برازش کل است.

میانگین مربعات خطای پیش‌بینی شاخص مناسبی برای ارزیـابی کارایی روش‌های مختلـف در بـرازش مـدل اسـت چراکـه همزمـان دربردارنده میزان صحت و اریبی مدل برازش یافته می‌باشد. با در نظر گرفتن نتایج جداول 2 و 4 می‌توان نتیجه گرفت که مدل‌های برازش یافته با شبکه عصبی بیزی نسبت روش‌های پارامتری صحت کمتری داشته اما نااریب تر هستند. این مطلب می‌تواند به دلیل اعمال جریمه بیشتر در روش‌های پارامتری نسبت به شبکه‌های عصبی بیزی باشـد که منجر به بیشتر شدن میانگین مربعات خطای پیش‌بینی می‌گردد.

میانگین مربعات خطای پیش‌بینی شـبکه‌هـای عصـبی بیـزی و روش‌های پارامتری در پیش‌بینی ژنومی داده‌های موش در جـدول 5 آورده شده است. طبق نتایج حاضر، عملکرد شبکه‌های عصبی بیزی و روش‌های پارامتری ازنظر میـانگین مربعـات خطـای پـیش‌بینـی در پیش‌بینی صفات شیب رشد و شاخص توده بدنی مشـابه بـود. در دو صفت وزن شش هفتگی و طول بدن نیز تفاوت عملکرد شـبکه‌هـای عصبی بیزی و روش‌های پارامتری ازنظـر میـانگین مربعـات خطـای پیش‌بینی بسیار ناچیز بود. این موضوع بیانگر تشابه کارایی شبکه‌های عصبی بیزی و روش‌های پارامتری در پیش‌بینی صفات مورد بررسی ازنظر میانگین مربعات خطای پیش‌بینی بود.

جدول 4- میانگین مربعات خطای پیش‌بینی شبکه‌های عصبی بیزی و روش‌های معیار در معماری‌های ژنتیکی شبیه‌سازی‌شده

Table 3- The mean squared error of prediction of Bayesian Regularized Neural Networks and benchmark methods on the simulated data.

روش‌های مورد مطالعه Study methods		معماری ژنتیکی اول A1	معماری ژنتیکی دوم A2	معماری ژنتیکی سوم A3	معماری ژنتیکی چهارم A4
شبکه عصبی بیزی BRNN	NN=1	0.243 (0.0175)	0.227 (0.0110)	0.288 (0.0180)	0.289 (0.0168)
	NN=2	0.204 (0.0111)	0.188 (0.0112)	0.287 (0.0155)	0.290 (0.0240)
	NN=3	0.190 (0.0077)	0.178 (0.0073)	0.321 (0.0323)	0.316 (0.0213)
	NN=4	0.183 (0.0078)	0.167 (0.0057)	0.295 (0.0235)	0.292 (0.0254)
	NN=5	0.185 (0.0091)	0.167 (0.0054)	0.319 (0.0262)	0.322 (0.0271)
روش‌های پارامتری PM	GBLUP	0.195 (0.0072)	0.187 (0.0091)	0.437 (0.0615)	0.325 (0.0128)
	Bayes RR	0.195 (0.0069)	0.187 (0.0087)	0.437 (0.0623)	0.327 (0.0129)
	Bayes A	0.187 (0.0084)	0.187 (0.0081)	0.543 (0.1214)	0.319 (0.0136)
	Bayes B	0.178 (0.0103)	0.187 (0.0093)	0.678 (0.2078)	0.313 (0.0141)
	Bayes C	0.194 (0.0070)	0.188 (0.0092)	0.753 (0.2632)	0.319 (0.0119)
	Bayes L	0.195 (0.0069)	0.188 (0.0074)	0.443 (0.0719)	0.324 (0.0128)

BRNN: Bayesian Regularized Neural Networks
PM: Parametric Methods
NN: Number of neurons in hidden layer

جدول 5- میانگین مربعات خطای پیش‌بینی شبکه‌های عصبی بیزی و روش‌های معیار در داده‌های موش

Table 5- The mean squared error of prediction of Bayesian Regularized Neural Networks and benchmark methods in genomic enabled prediction on the mouse data

روش‌های مورد مطالعه Study methods		وزن شش هفتگی W6W	شیب رشد Growth Slope	شاخص توده بدنی BMI	طول بدن Body Length
شبکه عصبی بیزی BRNN	NN=1	0.004 (0.0001)	0.002 (0.0001)	0.003 (0.0001)	0.227 (0.0076)
	NN=2	0.006 (0.0006)	0.002 (0.0000)	0.003 (0.0001)	0.215 (0.0077)
	NN=3	0.008 (0.0005)	0.002 (0.0000)	0.003 (0.0001)	0.214 (0.0077)
	NN=4	0.007 (0.0003)	0.002 (0.0000)	0.003 (0.0001)	0.214 (0.0079)
	NN=5	0.007 (0.0002)	0.002 (0.0000)	0.003 (0.0001)	0.213 (0.0078)
روش‌های پارامتری PM	GBLUP	0.005 (0.0001)	0.002 (0.0000)	0.003 (0.0001)	0.216 (0.0064)
	Bayes RR	0.005 (0.0001)	0.002 (0.0000)	0.003 (0.0001)	0.216 (0.0063)
	Bayes A	0.005 (0.0001)	0.002 (0.0000)	0.003 (0.0001)	0.216 (0.0063)
	Bayes B	0.005 (0.0001)	0.002 (0.0000)	0.003 (0.0001)	0.215 (0.0063)
	Bayes C	0.005 (0.0001)	0.002 (0.0000)	0.003 (0.0001)	0.215 (0.0062)
	Bayes L	0.005 (0.0001)	0.002 (0.0000)	0.003 (0.0001)	0.214 (0.0065)

BRNN: Bayesian Regularized Neural Networks
PM: Parametric Methods
NN: Number of neurons in hidden layer

میانگین مدت‌زمان اجرای شبکه‌های عصبی بیزی و روش‌های معیار در داده‌های شبیه‌سازی‌شده و صفات واقعی به ترتیب در جداول 6 و 7 گزارش‌شده است. طبق نتایج به‌دست‌آمده، در هر دو مجموعه معماری‌های ژنتیکی شبیه‌سازی‌شده و صفات واقعی، زمان محاسبات در شبکه عصبی بیزی با افزایش تعداد نرون به‌صورت تصاعدی افزایش یافت. مدت‌زمان اجرای شبکه‌های عصبی بیزی با یک نرون در لایه مخفی کمتر از روش‌های پارامتری بود. میانگین زمان محاسبات روش‌های پارامتری به‌استثنای GBLUP مشابه بود و روش GBLUP به علت معکوس کردن ماتریس خویشاوندی ژنومی و به دست آوردن اثرات مارکرها از ارزش‌های اصلاحی ژنومی زمان محاسباتی بیشتری را به خود اختصاص داد. مدت‌زمان اجرای شبکه‌های عصبی بیزی با 2 نرون در لایه مخفی همچنان کمتر از روش GBLUP بود. این نتایج نشان‌دهنده قابل‌قبول بودن هزینه محاسباتی شبکه‌های عصبی بیزی با 1 تا 2 نرون در لایه مخفی در پیش‌بینی ژنومی است. پیش‌بینی ژنومی با استفاده از شبکه‌های عصبی بیزی با تعداد نرون بیشتر حقیقتاً چالش‌برانگیز است و بهبود کارایی آنها ازنظر هزینه محاسباتی قبل از استفاده عملی در انتخاب ژنومی، ضروری خواهد بود. اوکات و همکاران (34) نیز هزینه محاسباتی بالای شبکه‌های عصبی بیزی در پیش‌بینی ژنومی را گزارش کردند.

جدول 6- میانگین مدت‌زمان اجرای شبکه‌های عصبی بیزی و روش‌های معیار در داده‌های شبیه‌سازی‌شده (برحسب ثانیه)

Table 6- The average computation time of Bayesian Regularized Neural Networks and benchmark methods on the simulated data (per second)

روش‌های مورد مطالعه Study methods		معماری ژنتیکی اول A1	معماری ژنتیکی دوم A2	معماری ژنتیکی سوم A3	معماری ژنتیکی چهارم A4
شبکه عصبی بیزی BRNN	NN=1	37.32 (1.22)	37.23 (1.33)	38.36 (1)	39.12 (0.44)
	NN=2	280.57 (0.38)	278.25 (1.77)	278.17 (1.27)	280 (1.18)
	NN=3	892.75 (2.02)	885 (5.67)	881.55 (5.26)	888.37 (5.01)
	NN=4	2040.4 (4.55)	2019.13 (16.58)	2004.24 (12.57)	2026.37 (9.78)
	NN=5	3877.41 (5.87)	3802.36 (31.66)	3812.98 (24.57)	3834.07 (23.06)
روش‌های پارامتری PM	GBLUP	302.61 (0.64)	301.93 (0.16)	302.03 (0.17)	302.29 (0.18)
	Bayes RR	125.03 (0.41)	124.88 (0.06)	124.83 (0.04)	124.82 (0.03)
	Bayes A	136.16 (0.4)	135.93 (0.06)	135.81 (0.07)	135.76 (0.05)
	Bayes B	138.07 (3.2)	145.82 (2.85)	118.17 (0.77)	151.43 (2.45)
	Bayes C	142.78 (1.59)	143.14 (0.87)	104.04 (3.02)	143.77 (0.99)
	Bayes L	141.17 (0.44)	140.98 (0.08)	140.92 (0.13)	140.97 (0.05)

BRNN: Bayesian Regularized Neural Networks
PM: Parametric Methods
NN: Number of neurons in hidden layer

جدول 7- میانگین مدت‌زمان اجرای شبکه‌های عصبی بیزی و روش‌های معیار در داده‌های موش (برحسب ثانیه)

Table 7- The average computation time of Bayesian Regularized Neural Networks and benchmark methods on the mouse data (per second)

روش‌های مورد مطالعه Study methods		وزن شش هفتگی W6W	شیب رشد Growth Slope	شاخص توده بدنی BMI	طول بدن Body Length
شبکه عصبی بیزی BRNN	NN=1	40.59 (0.68)	36.44 (1.49)	39.15 (1.07)	38.82 (0.58)
	NN=2	282.07 (0.59)	273.45 (4.61)	281.31 (0.51)	275.88 (0.28)
	NN=3	897.82 (1.89)	891.15 (7.06)	893.89 (0.99)	876.06 (1.27)
	NN=4	2047.66 (3.93)	2025.34 (5.28)	2036.63 (1.76)	1990.04 (2.47)
	NN=5	3888.58 (7.19)	3834.48 (6.93)	3859.87 (3.91)	3775.25 (5.6)
روش‌های پارامتری PM	GBLUP	348.26 (0.65)	347.67 (0.2)	350.17 (0.14)	348.22 (1.04)
	Bayes RR	131 (0.22)	131.03 (0.1)	131.77 (0.06)	131.61 (0.53)
	Bayes A	142.43 (0.1)	142.61 (0.08)	143.29 (0.06)	142.86 (0.43)
	Bayes B	160.43 (1.98)	151.67 (3.74)	148.53 (2.66)	150.69 (2.61)
	Bayes C	155.01 (0.42)	146.47 (1.2)	141.79 (1.06)	145.44 (1.23)
	Bayes L	147.75 (0.04)	147.95 (0.05)	148.72 (0.06)	148.38 (0.5)

BRNN: Bayesian Regularized Neural Networks
PM: Parametric Methods
NN: Number of neurons in hidden layer

نتیجه‌گیری کلی

باوجود بهتر بودن صحت و توانایی پیش‌بینی روش‌های پارامتری به دلیل معماری ژنتیکی افزایشی صفات موردبررسی، به نظر می‌رسد شبکه‌های عصبی بیزی ابزاری توانمند در پیش‌بینی ژنومی هستند که می‌توانند ارزش‌های اصلاحی ژنومی را با دقت مناسبی پیش‌بینی نمایند. توانایی پیش‌بینی ژنومی شبکه‌های عصبی به صفات هدف، گونه موردنظر و معماری شبکه عصبی بستگی دارد. درهرصورت قبل از استفاده از شبکه‌های عصبی بیزی در پیش‌بینی ژنومی بهتر است نتایج به‌دست‌آمده با روش‌های پارامتری مقایسه شود. همچنین قبل از استفاده عملی از شبکه‌های عصبی با تعداد نرون بیشتر در لایه مخفی در پیش‌بینی لازم است کارایی محاسباتی آنها بهبود یابد.

منابع

1- Calus, M., A. De Roos, and R. Veerkamp. 2008. Accuracy of genomic selection using different methods to define haplotypes. Genetics, 178(1), 553-561.
2- Chatterjee, N., B. Wheeler, J. Sampson, P. Hartge, S. J. Chanock, and J.H. Park. 2013. Projecting the performance of risk prediction based on polygenic analyses of genome-wide association studies. Nature Genetics, 45(4), 400.
3- Clark, S. A., J. M. Hickey, and J. H. Van der Werf. 2011. Different models of genetic variation and their effect on genomic evaluation. Genetics Selection Evolution, 43(1), 18.
4- Colombani, C., P. Croiseau, S. Fritz, F. Guillaume, A. Legarra V. Ducrocq, and C. Robert-Granié. 2012. A comparison of partial least squares (PLS) and sparse PLS regressions in genomic selection in French dairy cattle. Journal of Dairy Science, 95(4), 2120-2131.
5- Crossa, J., P. Perez, J. Hickey, J. Burgueño, L. Ornella J. Cerón-Rojas, X. Zhang, S. Dreisigacker, R.Babu, Y. Li, and D. Bonnett. 2014. Genomic prediction in CIMMYT maize and wheat breeding programs. Heredity, 112(1), 48.
6- Daetwyler, H. D., B. Villanueva, P. Bijma, and J. A. Woolliams. 2007. Inbreeding in genome-wide selection. Journal of Animal Breeding and Genetics, 124(6), 369-376.
7- Daetwyler, H. D., R. Pong-Wong, B. Villanueva, and J. A. Woolliams. 2010. The impact of genetic architecture on genome-wide evaluation methods. Genetics, 185: 1021-1031.
8- De los Campos, G., and P. Pérez-Rodríguez. "BGLR: Bayesian generalized linear regression." R package version 1.0.5 .2016.
9- De Los Campos, G., D. Gianola, G. J. Rosa, K. A. Weigel, and J. Crossa. 2010. Semi-parametric genomic-enabled prediction of genetic values using reproducing kernel Hilbert spaces methods. Genetics Research, 92(4), 295-308.
10- Ehret, A., D. Hochstuhl, D. Gianola, and G. Thaller. 2015. Application of neural networks with back-propagation to genome-enabled prediction of complex traits in Holstein-Friesian and German Fleckvieh cattle. Genetics Selection Evolution, 47(1), 22.
11- Eichler, E. E., J. Flint, G. Gibson, A. Kong, S. M. Leal, J.H. Moore, and J.H.Nadeau. 2010. Missing heritability and strategies for finding the underlying causes of complex disease. Nature Reviews Genetics, 11(6), 446.
12- Ghafouri-Kesbi, F., G. Rahimi-Mianji, M. Honarvar, and A. Nejati-Javaremi. 2017. Predictive ability of Random Forests, Boosting, Support Vector Machines and Genomic Best Linear Unbiased Prediction in different scenarios of genomic evaluation. Animal Production Science, 57(2), 229-236.
13- Gianola, D., and J. B. van Kaam. 2008. Reproducing kernel Hilbert spaces regression methods for genomic assisted prediction of quantitative traits. Genetics, 178(4), 2289-2303.
14- Gianola, D., H. Okut, K. A. Weigel, and G. J. Rosa. 2011. Predicting complex quantitative traits with Bayesian neural networks: a case study with Jersey cows and wheat. BMC genetics, 12(1), 87.
15- Gianola, D., R. L. Fernando, and A. Stella. 2006. Genomic-assisted prediction of genetic value with semiparametric procedures. Genetics, 173: 1761-1776.
16- Goddard, M. 2009. Genomic selection: prediction of accuracy and maximisation of long-term response. Genetica, 136(2), 245-257.
17- Goddard, M. E., B. J. Hayes, and T. H. Meuwissen. 2010. Genomic selection in livestock populations. Genetics research, 92(5-6), 413-421.
18- González-Camacho, J., G. de Los Campos, P. Pérez, D. Gianola, J.E. Cairns, G. Mahuku, R. Babu, and J. Crossa, 2012. Genome-enabled prediction of genetic values using radial basis function neural networks. Theoretical and Applied Genetics, 125(4), 759-771.
19- Hayes, B. J., P. J. Bowman, A. C. Chamberlain, K. Verbyla, and M. E. Goddard. 2009. Accuracy of genomic breeding values in multi-breed dairy cattle populations. Genetics Selection Evolution, 41(1), 51.
20- Heslot, N., H. P. Yang, M. E. Sorrells, and J. L. Jannink. 2012. Genomic selection in plant breeding: a comparison of models. Crop Science, 52(1), 146-160.

21- Howard, R., A. L. Carriquiry, and W. D. Beavis. 2014. Parametric and nonparametric statistical methods for genomic selection of traits with additive and epistatic genetic architectures. G3: Genes, Genomes, Genetics, g3-114.
22- Lampinen, J., and A. Vehtari. 2001. Bayesian approach for neural networks—review and case studies. Neural networks, 14(3), 257-274.
23- Legarra, A., C. Robert-Granié, P. Croiseau, F. Guillaume, and S. Fritz. 2011. Improved Lasso for genomic selection. Genetics research, 93(1), 77-87.
24- Lin, Z., N. O. Cogan, L. W. Pembleton, G. C. Spangenberg, J. W. Forster, B.J. Hayes, and H.D. Daetwyler. 2016. Genetic gain and inbreeding from genomic selection in a simulated commercial breeding program for perennial ryegrass. The plant genome, 9(1).
25- MacKay, D. J., and D. J. Mac Kay. 2003. Information theory, inference and learning algorithms. Cambridge University Press.
26- Martini, J. W., N. Gao, D. F. Cardoso, V. Wimmer, M. Erbe, R.J. Cantet, and H. Simianer. 2017. Genomic prediction with epistasis models: on the marker-coding-dependent performance of the extended GBLUP and properties of the categorical epistasis model (CE). BMC Bioinformatics, 18(1), 3.
27- Meuwissen, T. H., B. J. Hayes, and M. E. Goddard. 2001. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. Genetics, 157(4), 1819-1829.
28- Meuwissen, T., and M. Goddard, 2010. The use of family relationships and linkage disequilibrium to impute phase and missing genotypes in up to whole-genome sequence density genotypic data. Genetics, 185: 1441-1449.
29- Mohammadi, Y., M. M. Shariati, S. Zerehdaran, M. Razmkabir, M. B. Sayyadnejad, and M. B. Zandi. 2016. The accuracy of genomic breeding value for production trait in Iranian Holstein Dairy Cattle using parametric and non-parametric methods. Animal Production, 18(1): 1-11 (In Persian).
30- Moser, G., S. H. Lee, B. J. Hayes, M. E. Goddard, N. R. Wray, and P.M.Visscher. 2015. Simultaneous discovery, estimation and prediction analysis of complex traits using a Bayesian mixture model. PLoS genetics, 11(4), e1004969.
31- Neves, H. H., R. Carvalheiro, A. M. P. O'brien, Y. T. Utsunomiya, A. S. Do Carmo, F.S. Schenkel, J. Sölkner, J.C. McEwan, C.P. Van Tassell, J.B. Cole, and M.V. Da Silva. 2014. Accuracy of genomic predictions in Bos indicus (Nellore) cattle. Genetics Selection Evolution, 46(1), 17.
32- Ogutu, J. O., H.-P. Piepho, and T. Schulz-Streeck. 2011. A comparison of random forests, boosting and support vector machines for genomic selection. In BMC proceedings (Vol. 5, No. 3, p. S11). BioMed Central.
33- Okut, H., X.-L. Wu, G. J. Rosa, S. Bauck, B. W. Woodward, R.D.Schnabel, J.F. Taylor, and D.Gianola. 2013. Predicting expected progeny difference for marbling score in Angus cattle using artificial neural networks and Bayesian regression models. Genetics Selection Evolution, 45(1), 34.
34- Okut, H., D. Gianola, G. J. Rosa, and K. A. Weigel. 2011. Prediction of body mass index in mice using dense molecular markers and a regularized neural network. Genetics Research, 93(3), 189-201.
35- Pérez, P., and G. de Los Campos. 2014. Genome-Wide Regression and Prediction with the BGLR Statistical Package. Genetics, 198(2), 483–495.
36- Pérez-Rodríguez, P., D. Gianola, J. M. González-Camacho, J. Crossa, Y. Manès, and S. Dreisigacker. 2012. Comparison between linear and non-parametric regression models for genome-enabled prediction in wheat. G3: Genes, Genomes, Genetics, 2(12), 1595-1605.
37- Shaneh, A., and G. Butler. 2006. Bayesian learning for feed-forward neural network with application to proteomic data: the glycosylation sites detection of the epidermal growth factor-like proteins associated with cancer as a case study. In Conference of the Canadian Society for Computational Studies of Intelligence (pp. 110-121). Springer, Berlin, Heidelberg.
38- Tusell, L., P. Pérez-Rodríguez, S. Forni, X. L. Wu, and D. Gianola. 2013. Genome-enabled methods for predicting litter size in pigs: a comparison. Animal, 7(11), 1739-1749.
39- Wolc, A., J. Arango, P. Settar, J. E. Fulton, N. P. O'Sullivan, R. Preisinger, D. Habier, R. Fernando, D.J. Garrick, and J.C. Dekkers. 2011. Persistence of accuracy of genomic estimated breeding values over generations in layer chickens. Genetics Selection Evolution, 43(1), 23.
40- Xu, M., G. Zeng, X. Xu, G. Huang, R. Jiang, and W. Sun. 2006. Application of Bayesian regularized BP neural network model for trend analysis, acidity and chemical composition of precipitation in North Carolina. Water, Air, and Soil Pollution, 172(1-4), 167-184.
41- Yang, J., B. Benyamin, B. P. McEvoy, S. Gordon, A. K. Henders, D.R. Nyholt, P.A. Madden, A.C. Heath, N.G. Martin, G.W. Montgomery, and M.E. Goddard. 2010. Common SNPs explain a large proportion of the heritability for human height. Nature Genetics, 42(7), 565.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 11, No. 3, Fall 2019, p. 377-388

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد 11، شماره 3، پاییز 1398، ص. 388-377

Genomic Enabled Prediction Using Bayesian Artificial Neural Networks and Parametric Methods a Comparative Study

S. Shadpour[1], M. Tahmoorespur[2]*, M. M. Shariati[3]
Received: 30-07-2018
Accepted: 05-01-2019

Introduction In genomic selection, genetic values of individuals are predicted using genetic markers that are distributed all across the genome and are in linkage disequilibrium with quantitative trait locus. Different methods have been introduced to predict genomic breeding values. These methods take into account different assumptions. Non-parametric methods, including artificial neural networks, have fewer assumptions than parametric methods, and can apply nonlinear relationships in genomic predictions so, in theory these approaches are more robust against genetic architecture changes and are able to provide better predictions.

Materials and Methods In current study, the prediction ability of Bayesian neural networks with different architectures (1 to 5 neurons in the hidden layer) and parametric methods (GBLUP, Bayes RR, Bayes A, Bayes B, Bayes C Bayes L) in four simulated genetic architectures and four real traits of mouse (six weeks weight, growth slope, body mass index and body length) were compared using the correlation coefficient between predicted and expected values, mean square error of prediction and computation time. All simulated genetic architectures were additive and the gene effects followed a normal distribution. The number of QTLs in the first and third genetic architecture was 50 and it was 500 for second and fourth genetic architecture. The heritability of the first and second genetic architectures was 0.3 and the heritability of the third and the fourth genetic architectures was 0.7. The real data consisted of 1,296 mice which were genotyped with 9,265 SNP markers.

Results and Discussion The highest prediction accuracy of Bayesian neural networks were 0.640 (4 neuron in the hidden layer), 0.664 (4 neuron in the hidden layer), 0.800 (1 neuron in the hidden layer) and 0.810 (1 neuron in the hidden layer), and the highest prediction accuracy of parametric methods were 0.711(Bayes B), 0.685 (Bayes A), 0.903(Bayes B) and 0.836 (Bayes B) respectively for one to four simulated genetic architectures. These results showed the superiority of parametric methods to Bayesian neural networks in terms of prediction accuracy in genetic architectures with additive effects. In additive genetic architectures, the allelic effects of genetic variations are independent. In parametric models, these effects are assumed to be independent, therefore in additive genetic architectures can be expected that parametric methods are able to provide better predictions than nonparametric methods.

The maximum predictive abilities of Bayesian neural networks to predict six weeks weight, growth slope, body mass index and body length were 0.474 (1 neuron in the hidden layer), 0.349 (4 neuron in the hidden layer), 0.154 (1 neuron in the hidden layer) and 0.214 (4 neuron in the hidden layer). The predictive abilities of parametric methods to predict these traits were similar and equal to 0.477, 0.336, 0.170, and 0.221 in average. The results showed that the predictive abilities of Bayesian neural networks and parametric methods were similar on real data as the difference between the best predictive ability of Bayesian neural networks and parametric methods for Six weeks weight, growth slope and body length were less than 1%. The difference was slightly higher for the body mass index and equal to 1.8%.

The mean squared error of prediction of Bayesian Neural Networks was slightly less than parametric methods in the simulated genetic architectures. The results indicate a slight superiority of Bayesian neural networks compared to parametric methods in terms of mean squared error of prediction as an indicator of overall fit. The mean square prediction error is an appropriate criterion for evaluating the prediction performance of different methods because it contains both accuracy and bias. Considering table (3) and table (5), it can be concluded that the prediction of the Bayesian neural network are less accurate but more unbiased than the parametric methods. This could be due to more applied penalty in parametric methods compared to Bayesian neural networks, which can lead to an increase in the average mean squared error of prediction. In real data, the mean squared error of prediction of the Bayesian neural networks and parametric methods were similar.

1,2,3- Ph.D., Professor and Assistant Professor of Animal Sciences Department, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.
(*- Corresponding Author Email: tahmoores@um.ac.ir)

The computation time of Bayesian neural networks was increased with an increase in the number of neurons in the hidden layer. The computation time of the parametric methods was the same with the exception of GBLUP. The GBLUP method took more computation time. The computation time of neural the networks with 1 to 2 neurons in the hidden layer were less than GBLUP. Genomic prediction using Bayesian Neural Networks with a greater number of neurons is really challenging, and improving their performance in terms of computational cost is necessary before applying them in genomic selection.

Conclusion Although parametric methods had better predictive accuracy and predictive ability due to the additive genetic architecture of the studied traits, it can be concluded that Bayesian neural networks are powerful tools in genomic enabled prediction that can predict genomic breeding values with acceptable accuracy.

The genomic prediction ability of the neural networks depends on target traits, the animal species, and neural network architecture. Before using Bayesian neural networks in genomic prediction, it is better to compare the results with parametric methods. It is also necessary to improve the computation time of the Bayesian neural networks with a greater number of neurons in hidden layer before applying them in real application of genomic selection.

Key words: Efficiency comparison, Genomic evaluation, neural networks, parametric methods.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 11, No. 3, Fall 2019, p. 389-398

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد 11، شماره 3، پاییز 1398، ص. 398-389

تنوع ژنتیکی خط پدری اسب‌های ایرانی با استفاده از توالی یابی بخشی از کروموزوم Y

نعمت هدایت ایوریق[1*]، رضا خلخالی ایوریق[2]، رضا سیدشریفی[1]، مصطفی عمری[3]

تاریخ دریافت: 1396/12/17
تاریخ پذیرش: 1397/09/05

چکیده

علیرغم وجود تنوع بالا در ژنوم میتوکندریایی و خط مادری، تنوع کمی در کروموزوم Y و خط پدری در اغلب پستانداران، از جمله اسب‌ها وجود دارد. تاکنون مطالعات کمی در زمینه شناسایی تنوع ژنتیکی در کروموزوم Y اسب‌ها در جهان صورت گرفته است. در مطالعه کنونی، از تعداد 53 اسب از شش جمعیت نژادی مختلف در ایران شامل شامل اسب‌های موجود در باشگاه‌های سوار کاری شهرستان اردبیل (24 نمونه)، اسب‌های بومی شمال‌غرب (باشگاه‌ها) (17 نمونه)، اسب‌های کردی (15 نمونه)، اسب‌های عرب (10 نمونه)، اسب‌های دره شوری (10 نمونه) و اسب‌های قره‌باغ (5 نمونه) نمونه‌گیری شده و برای شناسایی تنوع در کروموزوم Y قطعه 264 جفت بازی از طریق روش توالی‌یابی سانگر مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج بدست آمده نشان داد که شش جایگاه متغیر در بین توالی‌ها وجود دارد که منجر به ایجاد نه هاپلوتایپ مختلف می‌شوند. از بین هاپلوتایپ‌های شناسایی شده، هاپلوتایپ دو (H-2) با در برگرفتن 15 نمونه، بزرگترین هاپلوتایپ محسوب شد. میانگین تنوع نوکلئوتیدی و تنوع هاپلوتایپی به ترتیب برابر با 0/0067 و 0/81 برآورد شد. هاپلوتایپ‌های یک (H-1) و دو (H-2) با در برگرفتن پنج نژاد از شش نژاد مورد مطالعه، متنوع‌ترین هاپلوتایپ‌ها بودند. اسب‌های عرب و دره‌شوری با فاصله ژنتیکی 0/00327 نزدیکترین نژادها و اسب‌های نمونه‌گیری شده از باشگاههای سوارکاری اردبیل و قره‌باغ با فاصله ژنتیکی 0/00822 دورترین نژادها نسبت به هم هستند. همچنین مشخص شد که برخلاف نژاد عرب، نژاد قره‌باغ دارای کمترین قرابت ژنتیکی پدری با اسب‌های ایرانی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: اسب‌های ایرانی، تنوع ژنتیکی، خط پدری، کروموزوم Y، هاپلوتایپ.

مقدمه

در بین حیوانات اهلی شده، اسب را می‌توان یکی از تاثیر گذارترین موجودات در روند مدرن شدن زندگی بشر دانست. شواهد باستان شناسی نشان می‌دهد که حضور اسب در ایران به 3000 سال قبل از میلاد باز می‌گردد (11). بر اساس آمار موجود، امروزه حدود 140 هزار راس اسب در مناطق مختلف ایران وجود دارند (7). به دلیل تنوع اقلیمی در ایران، نژادهای گوناگونی در نواحی مختلف کشور وجود دارند که از این دست می‌توان به نژادهای ترکمن، کردی، دره شوری، عرب، اسب فلات ایران، سیستانی، اسبچه خزر و اسب‌های بومی شمالغرب کشور اشاره کرد.

نژادهای بومی در هر کشور به‌عنوان سرمایه ملی و محصولی استراتژیک در اقتصاد و رونق آن کشور محسوب می‌شوند (23). به علاوه، در حوزه ژنتیک و اصلاح، اطلاع از ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها می‌تواند کمک بزرگی برای برنامه ریزی برای طرح‌های اصلاح نژادی و از همه مهمتر، حفظ ذخایر ژنتیکی باشد(16؛ 20 و 22). مطالعه تنوع ژنتیکی در میتوکندری و کروموزوم Y این امکان را فراهم نموده تا به ترتیب به ریشه‌یابی خط پدری و مادری اسب‌های مختلف دنیا پرداخته شود. علیرغم تنوع زیادی که تاکنون در ژنوم میتوکندری اسب‌ها گزارش شده (2؛ 9 و 19)، اما این تنوع در جایگاه‌های مختص نرها در کروموزوم Y ناچیز می‌باشد (3) و مطالعات کمی در مورد شناسایی تنوع‌های موجود در کروموزوم Y صورت گرفته است. از دلایل پایین بودن تنوع در کروموزوم Y می‌توان به کم بودن تعداد جمعیت موثر نرها (به دلیل رفتارهای ویژه تولید مثلی) و گذر از چندین تنگنای جمعیتی در اوایل دوران اهلی‌سازی اسب‌ها اشاره کرد (25). علاوه بر دلایل اشاره شده، تنوع در کروموزوم Y اسب‌های مدرن به علت تنظیم برنامه‌های اصلاحی شدید و تجارت گسترده اسب‌های خاص رو به کاهش می‌باشد. علیرغم پایین بودن میزان تنوع در کروموزوم

1- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی
2- دانش آموخته کارشناسی ارشدعلوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی
3- دانش آموخته دکتری تخصصی ژنتیک و اصلاح دام
(* - نویسنده مسئول: nhedayat@uma.ac.ir)
Doi:10.22067/ijasr.v11i3.71507

Y در نژادهای برتر جهان (13)، مطالعه‌ای بـر روی نژادهـای بـومی اسب چینی (14)، منجر به شناسایی تنوعی در نواحی مورد مطالعه شد. این نتایج می‌تواند نمایانگر این امر باشد که شناسایی تنوع در نژادهای بومی که وارد روند اصلاحی شدیدی نشده‌انـد، دور از انتظـار نیسـت. یکی از مطالعاتی که در زمینه شناسایی تنوع در کروموزوم Y صورت گرفته، مطالعه فونتس و همکاران (3) می‌باشد کـه بـر روی جمعیـت اسب‌های وحشی ریتوراتس[1] در اسپانیا انجام پذیرفت. در این مطالعه، از تعداد 6 اسب ریتوراتس و 40 اسب نر از 11 نژاد دیگر برای بررسی شش جایگاه در کروموزوم Y استفاده شد. مقایسه توالی‌های اسب‌های ریتوراتس با 11 نژاد دیگر نشان داد که هیچ گونه تفـاوتی بـین ایـن توالی‌ها وجود ندارد و لذا هیچ تنوعی در این شش جایگاه در بـین 12 نژاد مورد بررسی مشاهده نشد. در زمینه شناسایی تنوع در کروموزوم Y مطالعه‌ای دیگر بر روی اسب‌های بومی چین صورت پذیرفت (8). این مطالعه بر روی 304 اسب بومی چین (13 نژاد) و در 33 جایگـاه مختلـف کرومـوزوم Y انجـام گرفـت. نهایتـا در 2 جایگـاه (Y-45701/997 و Y-50869) تنوع تک نوکلئوتیـدی (SNP) مشـاهده شـده و در یـک جایگـاه دیگـر (Y-45288) نیـز یـک حـذف[2] تـک نوکلئوتیدی (حذف باز T) گزارش شد. جهش موجـود در جایگـاه Y-50869 (T>A) با فراوانی 24/67 دارای بیشترین فراوانـی در میـان جهش‌های شناسایی شده بود. با استفاده از جهش‌های شناسایی شده، 5 هاپلوتایپ در اسب‌های چینی گزارش شد.

اطلاعات فنوتیپی و داده‌های شجره‌ای به تنهـایی، منـابع کـافی برای تعیین تاریخ و منشاء نژادهای اسبی به شمار نمی‌آینـد. در کنـار اطلاعات فنوتیپی، مطالعات مولکولی و ژنتیکی اطلاعات کافی و قابل اعتمادی را در اختیار ما قرار می‌دهند. این دست مطالعات، بـه همـراه دیگر ابزارهای اصلاحی می‌توانند راهکارهای مـدیریتی کارآمـدی در زمینه مدیریت منابع ژنتیکی (در موجودات گوناگون) را پیش روی ما قرار دهند. به همین دلیل در این تحقیق مطالعه‌ای جهـت شناسـایی تنوع در کروموزوم Y در چندین نژاد اسب ایرانی پرداخته شـد تـا بـا شناختی بهتر از ترکیب ژنتیکی اسب‌های ایرانی و میزان تاثیرگـذاری دیگر اسب‌های جهان بر نژادهای ایرانی به دیدی بهتر در مـورد ایـن حیوانات در کشور نائل آییم.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری و استخراج DNA

برای اجرای این تحقیق، از تعداد 81 اسب متعلق به جمعیت‌هـای نژادی مختلف کشور شامل اسب‌هـای موجـود در باشـگاههای سـوار کاری شهرستان اردبیل (24 نمونه)، اسب‌هـای بـومی شـمال‌غـرب (باشگاه‌ها) (17 نمونه)، اسب‌های کردی (15 نمونه)، اسب‌های عـرب (10 نمونه)، اسب‌های دره شوری (10 نمونه) و اسب‌های قـره‌بـاغ (5 نمونه) نمونه خون استحصال شد. کلیه نمونه‌های خـون از سـیاهرگ گردنی اسب‌ها به مقدار 4 میلی‌لیتر تهیه شد و در یک تیـوب حـاوی EDTA (1 mg/ml) تا زمان استخراج در دمای 20- درجه سانتیگراد نگهداری شد. کل محتوای DNA با استفاده از روش کیت اسـتخراج DNA از خـون پسـتانداران شـرکت Exgene Cell SV kit (GENEALL Biotechnology co, LTD, Republic of Korea) استخراج شـد. کمیـت و کیفیـت DNA اسـتخراج شـده بـا استفاده از ژل اگارز 0/8درصد در دستگاه الکتروفروز سنجیده شد.

انتخاب آغازگر، تکثیر و توالی‌یابی جایگاه

با توجه به اینکه مطالعات مختلف نشـان مـی دهنـد کـه تنـوع چندانی در کروموزوم y وجود ندارد و در فقـط در بخشـی از منـاطق چندشکلی مشاهده شده است لذا در این مطالعه، از یک جفت آغـازگر رفت و برگشت اختصاصی برای تکثیر قطعه مورد نظر (Y-50869) بر روی کروموزوم Y اسب‌های نمونه‌گیری شده، استفاده گردید. پرایمـر مدنظر (شماره دسترسی در Genbank: JX646950) دارای طول 20 نوکلئوتید و دمای ذوب 58 درجه سانتیگراد بـوده و قـادر بـه تکثیـر قطعه‌ای به طول 264 باز می‌باشد (24). توالی آغازگر بـه شـرح زیـر می‌باشد.

F (5'-GGCCTAAGTTGTTCGCAGAG-3')
R (5'-TGACTGGTGGTGTCCAGTGT-3')

واکـنش‌هـای زنجیـره‌ای پلیمـراز (PCR) در حجـم‌هـای 25 میکرولیتـری، حـاوی 1/2 میلـی مـولار $MgCl_2$، 0/2 میلـی مـولار dNTP، 1/5 واحد آنزیم Taq پلیمراز ، 0/15 پیکومولار از پرایمرهای رفت و برگشت و 100 نانوگرم DNA انجام شدند. تمام واکنش های PCR با استفاده از برنامه استاندارد شامل 10 دقیقه واسرشت سـازی آغازین در دمای 95 درجـه سـانتیگراد ،30 سـیکل شـامل 30 ثانیـه واسرشت سازی در 94 درجه سانتیگراد،50 ثانیه در دمای اتصـال 62 درجه سانتیگراد و30 ثانیه در 72 درجه سانتیگراد بسط اولیه اجرا شد و در نهایت تکثیر نهایی به مدت 10 دقیقه در دمای 72 درجه سانتگراد انجام گرفت. درنهایت، محصولات PCR پس از بررسی در ژل اگارز 1/5 درصـد بـا اسـتفاده از روش سـانگر از طریـق شـرکت پیشـگام بیوتکنولوژی بصورت یک طرفه و از سمت رفت توالی‌یابی شدند.

تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی توالی‌ها

در گام نخست، توالی‌ها با استفاده از نرم‌افـزار Chromas 2.6.5 تعیین کیفیت شده سپس با استفاده MEGA 6.0 (21) همردیف شده و تعداد جایگاه‌های متفاوت (S) مشخص شدند. همچنین با استفاده از

1- Retuerats
2- deletion

برنامه MEGA 6.0 و الگوریتم حداکثر درستنمایی[1]، درخت فیلوژنی مربوط به هاپلوتایپ‌های مختلف رسم گردید. در گام بعدی، برای محاسبه تنوع نوکلئوتیدی (π)، تنوع هاپلوتایپی (H_d)، میانگین تعداد تفاوت‌های نوکلئوتیدی (k) و همچنین فواصل ژنتیکی بین جمعیت‌های نژادی مختلف، از نسخه 5 نرم‌افزار DnaSP (12) استفاده شد. در نهایت، جهت آنالیز شبکه‌ای هاپلوتایپ‌های به دست آمده، از نسخه 5 نرم‌افزار Network (www.fluxus-engineering.com) استفاده شد.

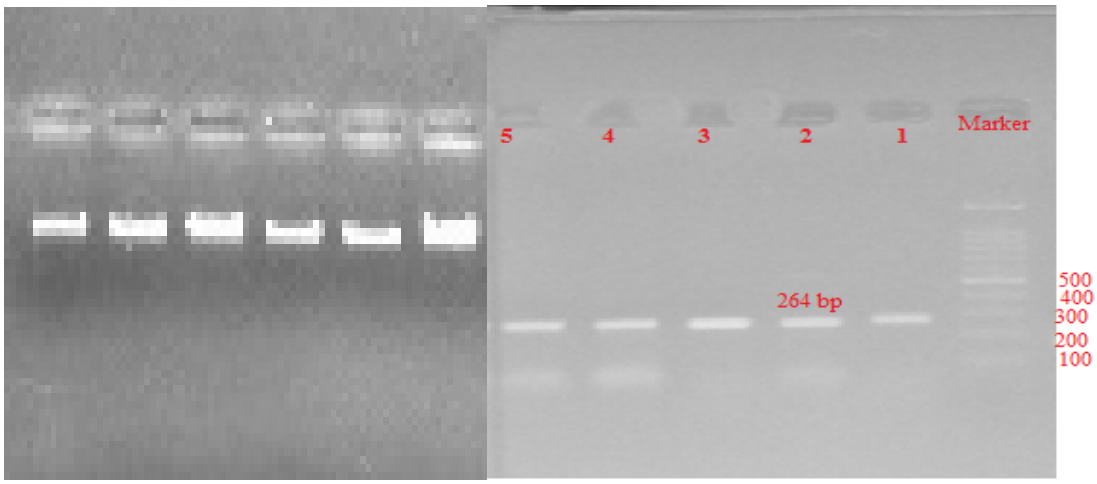
نتایج و بحث

همانطور که مشاهده می شود استخراج DNA و تکثیر محصولات PCR با کیفیت مناسب انجام گردید (شکل 1) سپس توالی یابی شد (شکل 2). بعد از همردیفی و اصلاح توالی‌های بدست آمده، تعداد شش جایگاه نوکلئوتیدی متغیر، منجر به شناسایی نه هاپلوتایپ در ناحیه تکثیر شده کروموزوم y در اسب‌های مورد مطالعه شد. از شش جایگاه متغیر دو جایگاه مربوط به جایگزینی‌های تک‌نوکلئوتیدی سینگلتون و چهار جایگاه نیز مربوط به جایگزینی‌های تک‌نوکلئوتیدی پارسیمونی بودند. در یک مطالعه بر روی 49 راس از نریان کاباردیان[2] نیز شش جهش گزارش شده است و نشان دادند که از سه هاپلوتیپ اصلی تشکیل شده است و نقش اسبهای عربی در ایجاد این نژاد نیز معنی دار بود (1) مقادیر میانگین تنوع نوکلئوتیدی و تنوع هاپلوتایپی برای کل نمونه‌ها به ترتیب برابر با 0/0067 و 0/81 بود. در مطالعه‌ای توسط مریدی و همکاران (17) بر روی اسب‌های بومی ایران (شامل نژادهای عرب، ترکمن، خزر، سیستانی و کرد)، مقدار میانگین تنوع نوکلئوتیدی بر پایه توالی D-loop میتوکندری برابر با 0/02 گزارش شد. در مطالعه‌ای دیگر نیز که توسط هدایت ایوریق و همکاران (9) بر روی توالی D-loop میتوکندری شش جمعیت نژادی مختلف از اسب‌های ایران صورت گرفت، مقادیر تنوع نوکلئوتیدی اسب‌های مورد مطالعه، در محدوده 0/0172 تا 0/0242 گزارش شد. مقایسه مقدار تنوع نوکلئوتیدی در خط پدری (مطالعه حاضر) با مقادیر گزارش شده برای خط مادری اسب‌های ایرانی در مطالعات مذکور، نشان دهنده تنوع بالا در خط مادری در مقایسه با خط پدری اسب‌های ایرانی می‌باشد. یکی از دلایل این امر را می‌توان به تعداد جمعیت موثر کم نرهای پستانداران اهلی (15) و از آن جمله اسب‌ها نسبت داد. تنوع نوکلئوتیدی و هاپلوتایپی بدست آمده در تحقیق حاضر از مقادیر گزارش شده برای نژادهای اسب‌های چینی (تنوع نوکلئوتیدی 0/00044 و تنوع هاپلوتایپی 0/402) بیشتر بود (8).

نتایج آنالیز قطعه 264 جفت بازی از کروموزم y نشان داد که در بین اسب‌های مورد مطالعه، اسب‌های نمونه‌گیری شده از باشگاههای سوارکاری اردبیل با قرار گرفتن در هشت هاپلوتایپ مختلف، بیشترین پراکندگی را نشان دادند. اسب‌های قره‌باغ و عرب نیز در دو هاپلوتایپ مختلف قرار گرفتند که می‌تواند به دلیل تعداد کم نمونه‌های مربوط به این نژادها باشد. هاپلوتایپ‌های شش، دو و یک به ترتیب با در برگرفتن 25 (30/86 درصد کل اسب‌ها)، 23 (28/39 درصد کل اسب‌ها) و 17 (20/99 درصد کل اسب‌ها) اسب، دارای بیشترین تعداد افراد بودند که می توان بعنوان اصلی ترین هاپلوتیپ خط پدری اسبهای مورد مطالعه معرفی کرد، در حالیکه هر کدام از چهار هاپلوتایپ پنج، هفت، هشت و نه فقط دارای یک فرد بودند. هاپلوتایپ‌های یک، دو و شش نیز هر کدام با داشتن پنج نژاد از شش نژاد مختلف، دارای بیشترین تنوع از این جهت بودند (جدول 1). در بین هاپلوتایپ‌های با تعداد بیش از یک فرد، هیچ هاپلوتایپ اختصاصی برای هیچ‌کدام از نژادها وجود نداشت. بررسی شبکه به‌هم پیوسته هاپلوتایپ‌ها نشان داد که هاپلوتایپ‌های ایجاد شده در واقع اختلاطی از نژادهای مختلف می‌باشند که این نتیجه می‌تواند به علت تاثیر نرهای نژادهای مختلف در جمعیت نژادهای دیگر باشد (شکل 3). میزان هاپلوتیپ بالا در جایگاههای کروموزومy در بز (4) مشاهده شده است ولی در گاوهای شیری میزان هاپلوتیپ کمتری گزارش شده است (5). در یک مطالعه ای با بررسی جایگاه ژنی موجود بر روی کروموزوم y در اسبهای ژاپن دو جایگاه چندشکلی را شناسایی کردند که در سه هاپلوتیپ قرارگرفتند (10). براساس مطالعات انجام گرفته و نتایج این مطالعه به نظر می رسد سه هاپلوتیپ اصلی در خط پدری اسب های آسیایی وجود دارد.

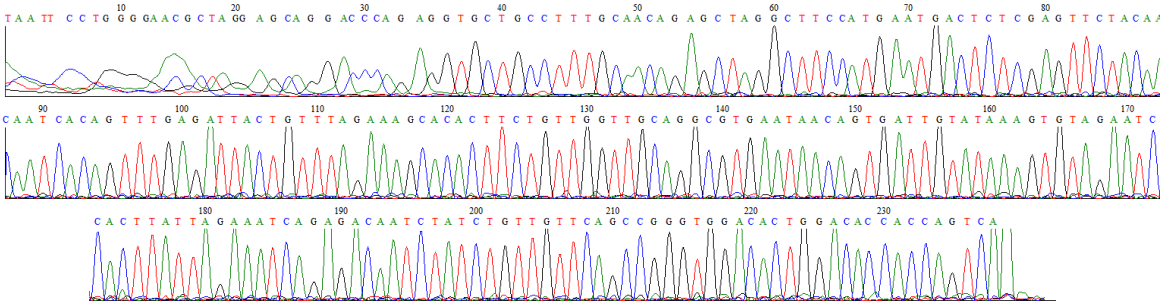
توالی‌های مربوط به اسب‌های نمونه‌گیری شده از باشگاههای سوارکاری اردبیل دارای پنج جایگاه متغیر بودند که منجر به شکل‌گیری هشت هاپلوتایپ در بین این اسب‌ها شد. نژاد کردی نیز با چهار جایگاه متغیر و شش هاپلوتایپ در جایگاه بعدی قرار گرفت. نژاد قره‌باغ علیرغم تعداد کم نمونه، سه جایگاه متغیر و دو هاپلوتایپ را نشان داد که مطالعه این نژاد با تعداد بالاتر نمونه می‌تواند در تائید یا رد تنوع بالا، کمک کننده باشد. در این مطالعه، بیشترین و کمترین تنوع هاپلوتایپی به ترتیب مربوط به اسب‌های کردی (0/86) و عرب (0/6) بود. در بین نژادهایی که پنج نمونه یا بیش از پنج نمونه داشتند، اسب‌های اردبیل با تنوع نوکلئوتیدی برابر با 0/00827 دارای تنوع بالایی بودند و نژاد عرب نیز پایین‌ترین تنوع نوکلئوتیدی (0/00288) را نشان داد (جدول 2). تنوع پایین در نژاد عرب می‌تواند به این دلیل باشد که علیرغم تاثیر بالای نرهای این نژاد بر نژادهای دیگر، برای بهینه‌سازی نژاد عرب، از نرهای نژادهای ایرانی استفاده نشده و یا استفاده کمی شده است. در بین نژادهای ایرانی، نژاد دره‌شوری دارای کمترین تنوع نوکلئوتیدی (0/00481) و هاپلوتایپی (0/8) بود. اطلاعات کم در مورد شجره اسب‌های ایرانی باعث شده تا بحث در مورد چرایی نتایج بدست آمده دارای محدودیت‌های باشد.

1- Maximum likelihood
2- Kabardian horse



شکل 1- تصویر DNA استخراج شده و تکثیر قطعه 264 جفت بازی کروموزوم Y در اسب های ایرانی

Figure 1. Extracted DNA (Right) and amplification of 264 bp seqgment of chromosome Y (Left) in Iranian horses.



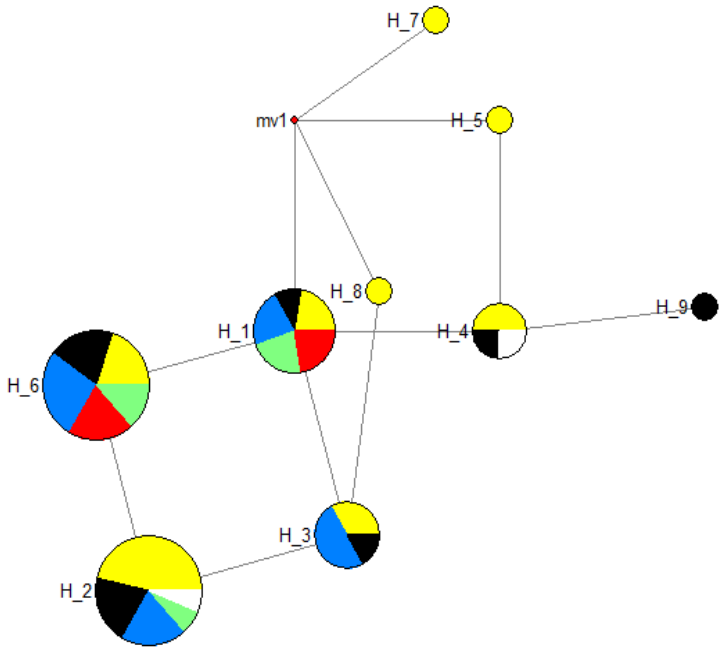
شکل2- کروماتوگرام توالی های بدست آمده از توالی یابی سانگر برای بخشی از کروموزوم Y در اسب

Figure 2- chromatogram of sequences from Sanger sequencing of partial chromosome Y in horses.

جدول 1- تعداد و فراوانی هاپلوتایپ‌های شناسایی شده در نژادهای اسب مورد مطالعه

Table 1- Number and frequency of identified haplotypes in under study horses

نژادها Breeds	تعداد Number	Hap 1	Hap 2	Hap 3	Hap 4	Hap 5	Hap 6	Hap 7	Hap 8	Hap 9
اردبیل Ardebil	24	4 (0.17)	9 (0.38)	2 (0.08)	2 (0.080)	1 (0.04)	4 (0.17)	1 (0.04)	1 (0.04)	0
شمالغرب Northwest	17	3 (0.17)	4 (0.24)	4 (0.24)	0	0	6 (0.35)	0	0	0
کردی Kordi	15	2 (0.13)	5 (0.33)	1 (0.07)	1 (0.07)	0	5 (0.33)	0	0	1 (0.07)
دره‌شوری Darehshuri	10	4 (0.4)	2 (0.2)	0	0	0	4 (0.4)	0	0	0
عرب Arab	10	4 (0.4)	0	0	0	0	6(0.6)	0	0	0
قره‌باغ Qarebagh	5	0	3 (0.6)	0	2 (0.4)	0	0	0	0	0
کل Total	81	17	23	7	5	1	25	1	1	1



شکل 3- شبکه به‌هم‌پیوسته هاپلوتایپ‌های مربوط به کروموزوم Y در اسب‌های اردبیل (زرد)، شمالغرب (آبی)، کردی (سیاه)، دره‌شوری (سبز)، عرب (قرمز) و قره‌باغ (سفید)

Figure 3- A median-joining haplotype network for Ardebil (Yellow), Northwest (Blue), Kordi (Black), Drehshuri (Green), Arab (Red) and Qarebagh (White) horses based on Y chromosome.

جدول2- تنوع ژنتیکی در اسب‌های اردبیل، شمالغرب، کردی، دره‌شوری، عرب و قره‌باغ بر اساس کروموزوم Y

Table 2- Genetic variation in Ardebil, Northwest, Kordi, Drehshuri, Arab and Qarebagh based on Y chromosome

نژادها Breeds	جایگاه‌های متنوع Segregating sites (S)	تعداد هاپلوتایپ Haplotype number (h)	تنوع نوکلئوتیدی Nucleotide diversity (π)	تنوع هاپلوتایپی Haplotype diversity (H_d)	میانگین تعداد تفاوت‌ها Average number of diffrences (k)
اردبیل Ardebil	5	8	0.00827	0.8421	1.71
شمالغرب Northwest	2	4	0.00517	0.8030	1.07
کردی Kordi	4	6	0.0078	0.8667	1.62
دره‌شوری Drehshuri	2	3	0.00481	0.8	1
عرب Arab	1	2	0.00288	0.6	0.6
قره‌باغ Qarebagh	3	2	0.01442	0.65	3

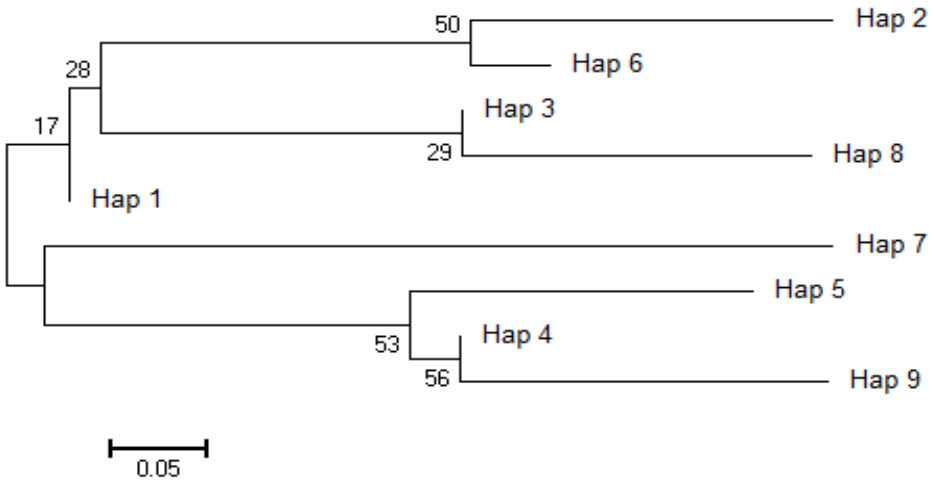
بررسی فواصل ژنتیکی (Dxy) بین جمعیت‌های نژادی مختلف اسب‌های تحت مطالعه، نشان داد که بیشترین و کمترین فاصله ژنتیکی خط پدری براساس جایگاه تکثیر شده ناحیه کروموزوم y به ترتیب متعلق به اسب‌های اردبیل-قره‌باغ (0/00822) و عرب-دره‌شوری (0/00327) می‌باشد (جدول 3). هرچند به نظر می‌رسید، اسب‌های نمونه‌گیری شده از باشگاههای سوارکاری اردبیل به دلیل نزدیکی جغرافیایی، دارای قرابت ژنتیکی بیشتری با اسب‌های قره‌باغ باشند، اما شواهد نشان می‌دهد که پرورش دهندگان اسب، اسب‌های خود را از نواحی مختلف خریداری کرده‌اند. احتمالا نریان‌های استفاده شده برای باروری در باشگاههای سوار کاری اردبیل را نمی‌توان

بومی این شهرستان دانست. پراکنش اسب‌های نمونه‌گیری شده از اردبیل در هاپلوتایپ‌های مختلف نیز دلیلی بر این ادعا می‌باشد. نتایج آنالیز فاصله ژنتیکی براساس نواحی D-LooP میتوکندریای نشان می دهد که فاصله ژنتیکی کمتری بین اسب های موجود در باشگاههای سوار کاری اردبیل با اسب های بومی شمالغرب دارد که می تواند نشان دهند استفاده از مادیان بومی جهت تکثیر اسب های ممتاز در باشگاهها باشد. (18) بررسی فواصل ژنتیکی نزدیک بین اسب‌های عرب با نژادهای دره‌شوری (0/00327)، شمالغرب (0/00473) و کردی (0/00567) در مقایسه با فواصل ژنتیکی بین نژادهای دیگر نشان از تاثیر نرهای نژاد عرب در اسب‌های ایرانی دارد. تاثیر بالای نژاد عرب در اسب‌های اصیل اروپایی از جمله نژاد تروبرد نیز به خوبی ثابت شده است (6) به طوریکه تمامی نرهای برتر تروبرد در انگلستان، از فرزندان سه نر برتری هستند که دو راس از آنها متعلق به نژاد عرب می‌باشند، این اسب‌ها در اواخر قرن 18 تا اواخر قرن 19 وارد اروپا شده‌اند (24). برخلاف نژاد عرب، نژاد قره‌باغ دارای کمترین قرابت ژنتیکی پدری با اسب‌های ایرانی می‌باشد. اسب‌های نمونه‌گیری شده از اردبیل، نزدیکترین فاصله ژنتیکی را در ارتباط با اسب‌های بومی شمالغرب نشان دادند (0/00656). ارتباط نزدیک و فاصله ژنتیکی پایین براساس ناحیه تکثیر شده کروموزوم y بین اسب‌های شمالغرب و دره‌شوری نیز از نتایج جالب توجه در این مطالعه به شمار می‌رود. با توجه به جدایی جغرافیایی بین اسب‌های شمالغرب (پراکنش در شمالغرب) و دره‌شوری (پراکنش اصلی در استان فارس) به نظر می‌رسد، با توجه به خصوصیات ظاهری نژاد دره‌شوری و شباهت آن به اسب عرب، پرورش دهندگان اسب، بعد مسافت را از میان برداشته و بین این دو نژاد، اختلاط ژنتیکی ایجاد کرده‌اند.

جدول 3- فاصله‌های ژنتیکی (Dxy) محاسبه شده بین نژادهای اسب تحت مطالعه

Table 3- Estimated genetic distances (Dxy) among under study horse breeds

	اردبیل Ardebil	شمالغرب Northwest	کردی Kordi	عرب Arab	دره‌شوری Drehshuri	قره‌باغ Qarebagh
اردبیل Ardebil	-	0.00656	0.00772	0.00668	0.00663	0.00822
شمالغرب Northwest	-	-	0.00617	0.00473	0.00473	0.00721
کردی Kordi	-	-	-	0.00567	0.00587	0.00769
عرب Arab	-	-	-	-	0.00327	0.00721
دره‌شوری Drehshuri	-	-	-	-	-	0.00721



شکل 4- درخت فیلوژنی بین شش نژاد اسب بر اساس نه هاپلوتایپ شناسایی شده

Figure 2- Phylogeny tree among six horse breeds based on nine identified haplotype

درخت فیلوژنی رسم شده بر اساس نه هاپلوتایپ از قطعه 264 جفت بازی تکثیر شده کروموزوم Y در شکل 4 ارائه شده است. درخت مذکور به طور کلی به دو شاخه اصلی تقسیم‌بندی می‌شود که در شاخه اول پنج هاپلوتایپ (یک، دو، سه، شش و هشت) و در شاخه دوم نیز چهار هاپلوتایپ (چهار، پنج، هفت و نه) وجود دارند. تعداد 73 اسب که شامل 90/12 درصد از کل نمونه‌ها می‌شود، در شاخه اول و 8 نمونه (9/88 درصد از کل نمونه‌ها) نیز در شاخه دوم قرار دارند.

نتیجه‌گیری کلی

هر چند این تحقیق را نمی‌توان کامل ارزیابی کرد، اما شروعی است برای راهی که می‌تواند اطلاعات جامع و کاربردی را در اختیارمان قرار دهد. به نظر می‌رسد وجود اطلاعات شجره‌ای دقیق برای اسب‌های ایرانی در کنار مطالعات ژنتیکی می‌تواند در تقسیم‌بندی بهتر این حیوانات کمک کننده باشد. تقسیم‌بندی و شناخت دقیق جمعیت‌های اسب در ایران می‌تواند در زمینه طراحی استراتژی‌های اصلاحی کارآمد، موثر باشد.

منابع

1- Ali-Bek, D. K., A. S. Duduev, Z. A. Kokov, K. K., Amshokov, M. K. Zhekamukhov, A. M. Zaitsev, and M. Reissmann. 2018. Genetic analysis of maternal and paternal lineages in Kabardian horses by uniparental molecular markers. Open Veterinary Journal, 8: 40-46.

2- Bigi, D., G. Perrotta, and P. Zambonelli. 2014. Genetic analysis of seven Italian horse breeds based on mitochondrial DNA D-loop variation. Animal Genetics, 45(4): 593-595.

3- Brandariz-Fontes, C., J. A. Leonard, J. L. Vega-Pla, N. Backström, G. Lindgren, S. Lippold, and C. Rico. 2013. Y-chromosome analysis in retuertas horses. PloS One, 8(5): p.e64985.

4- Cinar Kul, B., N. Bilgen, J. A. Lenstra, O. Korkmaz Agaoglu, B. Akyuz, and O. Ertugrul. 2015. Y-chromosomal variation of local goat breeds of Turkey close to the domestication centre. Journal Of Animal Breeding and Genetics, 132(6):449-453.

5- Correia, P. B. C., E. E. Baron, J. F. M. d. Silva, and Ó. C. Gardyn. 2017. Mitochondrial and Y chromosome genetic diversity in the Portuguese Lidia bovine breed. Revista Brasileira de Zootecnia, 46(2):99-104.

6- Cunningham, E. P., J. J. Dooley, R. K. Splan, and D. G. Bradley. 2001. Microsatellite diversity, pedigree relatedness and the contributions of founder lineages to thoroughbred horses. Animal Genetics, 32(6): 360-364.

7- FAOSTAT., 2014. Food and Agriculture Organization of the United Nations: Available at www.fao.org/faostat/en/#data/QA.

8- Han, H., Q. Zhang., K. Gao., X. Yue., T. Zhang., R. Dang., X. Lan., H. Chen, and C. Lei. 2015. Y-Single Nucleotide Polymorphisms Diversity in Chinese Indigenous Horse. Asian-Australasian journal of Animal Sciences, 28(8): 1066-1074.

9- Hedayat-Evrigh, N., M. Omri, A. Boustan, R. Seyedsharifi, and V. Vahedi. 2018. Genetic diversity and structure of Iranian horses' population based on mitochondrial marker. Journal of Equine Veterinary Science, 64:107-111.

10- Kakoi, H., T. Tozaki, M. Kikuchi, K. Hirota, S. Nagata, and M. Takasu. 2016. P4017 Distribution of Y chromosomal haplotypes in Japanese native horse populations. Journal of Animal Science, 94: 86-87.

11- Khalili, M. 2009. Horses and my expertise, Page 694. Nashr-e Zarre Publication, Iran.

12- Librado, P, and J. Rozas. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. Bioinformatics, 25(11): 1451-1452.

13- Lindgren, G., N. Backström, J. Swinburne, L. Hellborg, A. Einarsson, K. Sandberg, G. Cothran, C. Vilà, M. Binns, and H. Ellegren. 2004. Limited number of patrilines in horse domestication. Nature Genetics, 36(4): 335-336.

14- Ling, Y., Y. Ma, W. Guan, Y. Cheng, Y. Wang, J. Han, D. Jin, L. Mang, and H. Mahmut. 2010. Identification of Y chromosome genetic variations in Chinese indigenous horse breeds. Journal of Heredity, 101(5): 639-643.

15- Lippold, S., M. Knapp, T. Kuznetsova, J. A. Leonard, N. Benecke, A. Ludwig, M. Rasmussen, A. Cooper, J. Weinstock, E. Willerslev, and B. Shapiro. 2011. Discovery of lost diversity of paternal horse lineages using ancient DNA. Nature Communications, 2: 450.

16- Moghadaszadeh, M., M. R. Mohammadabadi, and A. K. Esmailizadeh. 2015. Association of Exon 2 of BMP15 Gene with the Litter Size in the Raini Cashmere Goat. Genetics in the 3rd Millennium, 13(3): 4062-4067.

17- Moridi, M., A. A. Masoudi, R. Vaez Torshizi, and E. W. Hill. 2013. Mitochondrial DNA D-loop sequence variation in maternal lineages of Iranian native horses. Animal Genetics, 44(2): 209-213.

18- Omri, M. 2017. Investigation of genetic structure in native horses' population using mitochondrial marker in North-west of Iran. Master of Science Thesis in university of Mohaghegh Ardabili (in Persian).

19- Othman, O. E., K. F. Mahrous, and H. I. Shafey. 2017. Mitochondrial DNA genetic variations among four horse

populations in Egypt. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology, 15(2): 469-474.
20- Shamsalddini, S., M. R. Mohammadabadi, and A. K. Esmailizadeh. 2016. Polymorphism of the prolactin gene and its effect on fiber traits in goat. Russian Journal of Genetics (Genetika), 52 (4): 461–465.
21- Tamura, K., G. Stecher, D. Peterson, A. Filipski, and S. Kumar. 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. Molecular Biology and Evolution, 30(12): 2725-2729.
22- Tohidi nezhad, F., M. R. Mohammadabadi, A. K. Esmailizadeh, and A. Najmi Noori. 2015. Comparison of different levels of Rheb gene expression in different tissues of Raini Cashmir goat. Journal of Agricultural Biotechnology, 6 (4): 35-50 (In Farsi).
23- Vajed Ebrahimi, M.T., M. R. Mohammadabadi, and A. K. Esmailizadeh. 2017. Using microsatellite markers to analyze genetic diversity in 14 sheep types in Iran. Archiv fuer Tierzucht, 60: 183-189
24- Wallner, B., C. Vogl, P. Shukla, J. P. Burgstaller, T. Druml, and G. Brem. 2013. Identification of genetic variation on the horse y chromosome and the tracing of male founder lineages in modern breeds. PLoS One, 8(4): p.e60015.
25- Warmuth, V., A. Eriksson, M. A. Bower, G. Barker, E. Barrett, B. K. Hanks, S. Li, D. Lomitashvili, M. Ochir-Goryaeva, G. V. Sizonov, and V. Soyonov. 2012. Reconstructing the origin and spread of horse domestication in the Eurasian steppe. Proceedings of the National Academy of Sciences, 109 (21): 8202-8206.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 11, No. 3, Fall 2019, p. 389-398

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد 11، شماره 3، پاییز 1398، ص. 398-389

Genetic Diversity in Paternal Line of Iranian Horses Using Partial Sequencing of Chromosome Y

N. Hedayat Evrigh[1]*, R. Khalkhali Evrigh[2], R. Seyedsharifi[1], M. Omri[3]

Received: 08-03-2018
Accepted: 26-11-2018

Introduction Among domesticated animals, the horse can be considered as one of the most influential animals in the process of human life modernization. Based on archaeological evidence, the presence of horses in Iran goes back to 3000 BC. Today, over 300 horses are recognized worldwide and a great number that is indigenous to Iran. The statistics provided by FAOSTAT indicate that there are about 140,000 horses. Due to climate diversity in Iran, there are various horse breeds in different parts of the country, such as Turkmen, Kordi, Drehshuri, Arab, Sistani, Northwest native and Caspian horses. Study of variations in Y chromosome and mtDNA make it possible to the characterization of genetic diversity in the maternal and paternal lines, respectively. Despite the high diversity in the genome of mitochondria in horses, but variation in Y chromosome is in low level. Low variation in Y chromosome of horses can be due to small male effective population size and loss of variations due to bottleneck during domestication. Several studies on Chinese indigenous and European modern horses revealed that native horses have more Y chromosomal variation in compared with modern breeds. So, the aim of present study was an assessment of genetic diversity in paternal line of Iranian horses using Y chromosome. Identified the genetic structure is important for appropriate breeding programs.

Material and Methods Blood samples were collected from Jugular vein using 4 ml tubes containing EDTA (1 mg/ml) of 81 horse belonging to six different populations including Ardebil's stables horses (24 samples), Northwest horses (17 samples), Kordi horses (15 samples), Arab horses (10 samples), Darehshuri horses (10 samples) and Qarebagh horses (5 samples). Total genomic DNA was extracted from whole blood. A total of the 264-bp fragment (locus: Y-50869) of Y chromosome was amplified using a pair of 20-nucleotide primer (Genbank accession number: JX646950). Polymerase Chain Reaction (PCR) was carried out and then, products of PCR sequenced using Sanger sequencing method. Alignment of sequences was performed by MEGA 6.0 software. Also, MEGA 6.0 used for segregating sites identification and also phylogeny tree construction based on identified haplotypes. DnaSP5 was used to the estimation of haplotype diversity (Hd), nucleotide diversity (π), genetic distance (Dxy) and an average number of differences (k). Finally, the median-joining network was generated using the Network 5 program to present the possible relationships among haplotypes.

Results and Discussion Alignment of sequences led to the identification of six segregating sites and consequently nine haplotypes based on Y chromosome sequences. Three haplotypes (H_1, H_2, and H_6) are widely distributed among under study samples, so that, 65 of 81 (more than 80 %) individuals have placed in three haplotypes. Among haplotypes with more than one individual, there is no special haplotype for any of breeds. Haplotype diversity values ranged from 0.6 for Arab breed to 0.86 for Kordi breed. The nucleotide diversity values ranged from 0.00288 for Arab breed to 0.01442 for the Qarebaghg breed. Average values for nucleotide diversity and haplotype diversity were 0.0067 and 0.81 respectively. Comparison of present results with the previous study on mtDNA diversity of Iranian horses revealed that maternal line of Iranian horses is more divers from paternal line. Among Iranian breeds, Dareshuri breed has the lowest nucleotide diversity 0.00481 and haplotype diversity 0.00481 and 0.8 respectively. Assessment of genetic distance among breeds revealed that Ardebil and Qarebagh horses have the highest distance (0.00822), while Arab and Dareshuri horses showed the lowest genetic distance (0.00327). Obtained results indicated that, unlike Arab breed, Qarebagh horses had low influence in Iranian horses. Phylogeny tree based on haplotypes of Iranian horses showed that

1-Departmetn of Animal Science, Fcaulty of Agriculture and natural resource, University of Mohaghegh Ardabili
2-MSC graduated student of Animal Science, Fcaulty of Agriculture and natural resource, university of Mohaghegh Ardabili
3-PhD graduated of Genetic and Animal Breeding
(*-Corresponding Author Email: nhedayat@uma.ac.ir)

divided into two branches. Generally, 73 individual (90.12% of all horses) and 8 individuals (9.88% of all samples belongs to each of the two branches.

Conclusion The number of haplotypes which was found for Iranian native horses was placed among three haplogroups, which indicate moderate genetic variety and numerous maternal lines in native horses of Iran. It seems that the presence of the accurate pedigree information along genetic studies can help us to better categorize Iranian horses. In fact, to designing effective breeding strategies, we need to identify the precise genetic structure of Iranian horses. What we learned from this study was that Iranian horses in compared with European pure breeds are more diverse. Obtained results from this study showed that Stalions of Arab breed had high impact in Iranian horses.

Key words: Genetic diversity, Haplotype, Iranian horses, Paternal line, Y chromosome.

Contents

Ruminant Nutrition

Effects of Dietary Slow Release Urea and Molasses on Growth Performance, Digestibility, Ruminal Fermentation and Carcass Traits of Fattening Lambs 290
M. R. Mashayekhi, M. Sari, N. Erfani-majd, M. Rezaei

The Effect of Different Levels of De-oiled Rice Bran Replacement to Soybean Meal on Milk Production and Composition, Body Condition Score and Some Blood Parameters in Dairy Cows 305
Yadollah Chashnidel ,Sirous Shokrolahi ,Mostafa Yousefelahi ,Akbar Soleymani ,Mehdi Bahari

The Effects of Different Forms of Selenium on Gas Production Parameters, Rumen Fermentation and Rumen Protozoa Population 316
S. Dehghani, A. Taghizadeh, H. Mohammadzadeh

Dietary organic and inorganic zinc supplements in Kermani male lambs: Impacts on serum minerals, antioxidant status and some blood parameters. 328
A. Mousaie

Poultry Nutrition

Effects of Dietary Lysine and Betaine on Meat and Bone Characteristics of Broiler Chickens Under Cold Induced Ascites 339
Alipanah - M. Daneshyar- P. Farhoomand - Gh. Najafi

Effects of Mineral Premix on Performance, Feathering Score, Tibia Characteristics and Minerals Accumulation in Serum and Feather in Broiler Chicks 351
S. Mohammadi- H. Darmani Kuhi- N. Ghavi Hossein-Zadeh

Determination of Apparent and Standardized Ileal Digestibility of Essential Amino Acids of Corn, Wheat, Soybean Meal and Corn Gluten Meal in Japanese Quails During Third Week of Age 363
Mahmoud Ghazaghi, Ahmad Hassanabadi, Mehran Mehri

Genetic and Breeding

Genotype Analysis of the Major Histocompatibility Complex Region in Iranian Indigenous Chicken 374
J. Pish Jang Aghajeri - G. Rahimi Mianji- S. H. Hafezian- M. Gholizadeh- G. Elyasi

Genomic Enabled Prediction Using Bayesian Artificial Neural Networks and Parametric Methods a Comparative Study 387
S. Shadpour - M. Tahmoorespur - M. M. Shariati

Genetic Diversity in Paternal Line of Iranian Horses Using Partial Sequencing of Chromosome Y 397
Nemat Hedayat Evrigh, Reza Khalkhali Evrigh, Reza Seyedsharifi, Mostafa Omri

« Scientific Journal»
Iranian Journal of Animal Science Research

Vol. 11 **No. 3** **Fall 2019**

Publisher: Ferdowsi University of Mashhad (F.U.M.)
Responsible Manager: H. Nassiri Moghaddam (Prof.)
Editor-in-Chief: R. Valizadeh (Prof.)

Editorial Board:

R. Valizadeh	Ruminant Nutrition	(Prof.)	(F.U.M.)
M. Danesh Mesgaran	Ruminant Nutrition	(Prof.)	(F.U.M)
G.R. Ghorbani	Ruminant Nutrition	(Prof.)	Esfahan Technology University
S.M. Tabatabaee	Ruminant Nutrition	(Prof.)	Bo Ali-Sina University of Hamedan
M. Chaji	Ruminant Nutrition	(Asso. Prof.)	Agricultural Science and Natural Resourses University Of Khuzestan
H. Nassiri-Moghaddam	Poultry Nutrition	(Prof.)	(F.U.M.)
A. Golian	Poultry Nutrition	(Prof.)	(F.U.M.)
J. Pour-Reza	Poultry Nutrition	(Prof.)	Esfahan Technology University
F. Boldaji	Poultry Nutrition	(Prof.)	Gorgan Agricultural and Natural Resources University
A. Hassanabadi	Poultry Nutrition	(Prof.)	(F.U.M.)
B. Dastar	Poultry Nutrition	(Prof.)	Gorgan Agricultural and Natural Resources University
J. Zamiri	Animal Physiology	(Prof.)	Shiraz University
N. Pirani	Genetics & breeding	(Asso. Prof.)	Shahre kord University
M.R. Nassiri	Genetics & breeding	(Prof.)	(F.U.M.)
M.Tahmoores pour	Genetics & breeding	(Prof.)	(F.U.M.)
S. Zerehdaran	Genetics & breeding	(Prof.)	(F.U.M.)
M. Sargolzaei	Genetics	(Asso. Prof.)	University of Guelph, Canada

Printed by: Ferdowsi University of Mashhad, Press.

Address: P.O. Box 91775-1163, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

Phone: +98-51-38804656

Fax: +98-51-38787430

E-Mail: ijasr@ferdowsi.um.ac.ir

Web Site: https://ijasr.um.ac.ir